Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Tübingen
Abteilung Innere Medizin III
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. L. Seipel

# Assoziation der idiopathischen rapid progressiven Glomerulonephritis Typ II zu verschiedenen Produkten des menschlichen Haupthistokompatibilitätskomplexes

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des
Doktorgrades der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt von

**Manfred Michael Gebhardt**
aus Metzingen

1987

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543904_0106

Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Tübingen
Abteilung Innere Medizin III
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. L. Seipel

# Assoziation der idiopathischen rapid progressiven Glomerulonephritis Typ II zu verschiedenen Produkten des menschlichen Haupthistokompatibilitätskomplexes

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des
Doktorgrades der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt von

**Manfred Michael Gebhardt**
aus Metzingen

1987

Dekan: Professor Dr. D. Niethammer
1. Berichterstatter: Professor Dr. T. Risler
2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. U. T. Hopt

Offsetdruck Spengler
Lessingstraße 4 · 7401 Neustetten 1
Telefon (0 74 72) 2 21 45

Meinen Eltern
und Lehrern
in tiefer Dankbarkeit

# INHALTSVERZEICHNIS


| | S. |
|---|---|
| 1. EINLEITUNG | 5 |
| 1.1. Die rapid progressive Glomerulonephritis | 5 |
| 1.1.1. Charakterisierung und Klinik der RPGN | 5 |
| 1.1.2. Ätiologie und Epidemiologie der RPGN | 6 |
| 1.1.3. Histologie und Klassifikation der RPGN | 6 |
| 1.1.4. Prognose und Therapie der RPGN | 7 |
| 1.1.5. Vorstellungen zur Pathogenese der RPGN | 8 |
| 1.2. Das HLA-System | 9 |
| 1.2.1. Charakterisierung des HLA-Systems | 9 |
| 1.2.2. Klassifikation und Struktur der HLA-Moleküle | 10 |
| 1.2.3. Genetik und Funktion des HLA-Systems | 12 |
| 1.2.4. HLA und Krankheit | 14 |
| 1.3. Fragestellung | 15 |
| 2. MATERIAL UND METHODIK | 16 |
| 2.1. Patienten | 16 |
| 2.2. Lymphozytengewinnung | 17 |
| 2.2.1. Material und Reagenzien | 17 |
| 2.2.2. Technik der Lymphozytengewinnung | 17 |
| 2.3. Lymphozytentrennung | 17 |
| 2.3.1. Material und Reagenzien | 17 |
| 2.3.2. Technik der B/T-Zelltrennung | 18 |
| 2.4. HLA-Serologie | 19 |
| 2.4.1. Material und Reagenzien | 19 |
| 2.4.2. Standard-Lymphozytotoxizitätstest | 20 |
| 2.4.3. Modifizierter Lymphozytotoxizitätstest | 21 |
| 2.5. Bestimmung der Properdinfaktorallele | 21 |
| 2.5.1. Testprinzip | 21 |
| 2.5.2. Material und Reagenzien | 22 |
| 2.5.3. Stärkegelelektrophorese | 22 |
| 2.5.4. Immunfixation | 23 |
| 2.5.5. Zymogramm | 24 |
| 2.6. Statistische Verfahren | 24 |
| 3. ERGEBNISSE | 26 |
| 3.1. Verteilung der Klasse I-Antigene | 26 |
| 3.2. Verteilung der Klasse II-Antigene | 27 |
| 3.3. Verteilung der Properdinfaktorallele | 27 |
| 3.4. Verteilung von Allelkombinationen | 28 |
| 4. DISKUSSION | 30 |
| 4.1. Zur Fragestellung | 30 |
| 4.2. Zur Methodik | 33 |
| 4.3. Hypothesen zu HLA und Krankheit | 35 |
| 4.4. Schlußfolgerungen | 39 |
| 5. ZUSAMMENFASSUNG | 41 |
| 6. Tabellen 1-9 | 43 |
| Legende | 52 |
| 7. LITERATURVERZEICHNIS | 53 |
| Lebenslauf | 68 |

# 1. EINLEITUNG

## 1.1. Die rapid progressive Glomerulonephritis (RPGN)

### 1.1.1. Charakterisierung und Klinik der RPGN

Im Jahre 1914 berichteten Volhard und Fahr erstmals über einen Patienten mit perakuter Nephritis, die innerhalb weniger Tage zum Tod in der Urämie führte. Bei der Autopsie fanden sie in beiden Nieren des Verstorbenen eine schwerste extrakapilläre Nephritis mit auffallenden epithelialen Wucherungen in den Bowmanschen Kapselräumen, die sie als Halbmonde bezeichneten (Volhard und Fahr, 1914). Dieser rasch progrediente Verlauf zur terminalen Niereninsuffizienz zusammen mit den eindrücklichen morphologischen Nierenveränderungen wurde später als charakteristisches Merkmal der RPGN beschrieben (Ellis, 1942).

Bei der RPGN handelt es sich um die schwerste Form einer Glomerulonephritis, ohne therapeutische Intervention führt sie bei 90% der Patienten innerhalb der ersten zwölf Monate nach Diagnosestellung ad exitum und besitzt somit eine ausgesprochen schlechte Prognose (Sarre et al., 1971).

Die Krankheit beginnt meist abrupt mit unspezifischen Allgemeinsymptomen wie Müdigkeit, Appetitlosigkeit, Kopfschmerzen und Übelkeit als Zeichen einer schon bestehenden Azotämie. Innerhalb weniger Tage bis Wochen entwickelt sich eine Oligo-/Anurie mit bekannten Komplikationen wie Flüssigkeitsretention, Azidose und Hyperkaliämie. Obligat vorhanden sind Proteinurie und Hämaturie. Die Proteinurie ist meist mild ausgeprägt. Zur Ausbildung eines nephrotischen Syndroms kommt es nur bei einem Drittel der Patienten, da wegen der mechanischen Verlegung der Bowmanschen Kapselräume und Kompression der glomerulären Konvolute die Filtrationsleistung und somit die Harnproduktion der Nieren schon frühzeitig abnimmt. Die Hämaturie imponiert bei über 50% der Erkrankten als Makrohämaturie. Der arterielle Blutdruck bleib meist im Normbereich oder ist nur leicht erhöht. Ödeme bilden sich bei 2/3 der Patienten aus. Bei längerer Krankheitsdauer kann sich eine normochrome Anämie entwickeln (Beirne et al., 1977; Bohle et al., 1984; Glassock et al., 1981; Renner, 1982).

Zum Zeitpunkt der stationären Einweisung und diagnostischen Nierenpunktion steht beim größten Teil der Patienten die rasch voranschreitende Niereninsuffizienz im Vordergrund.

### 1.1.2. Ätiologie und Epidemiologie der RPGN

Gelegentlich tritt die RPGN als primäre/idiopathische Erkrankung ohne Hinweise auf auslösende Faktoren auf (Glassock et al., 1981).

Häufiger jedoch kommt sie sekundär im Rahmen von Systemerkrankungen vor, z.B. bei Lupus erythematosus disseminatus, bei Wegenerscher Granulomatose, bei Panarteriitis nodosa, bei Cryoglobulinämie und monoklonalen Gammopathien (Churg et al., 1973; Meyrier et al., 1984; Rosen et al., 1975; Spargo et al., 1977).

Vermehrt beobachtet wird sie bei Kindern nach Streptokokkeninfekten und bei Erwachsenen nach unklaren Infektionen des Respirationstrakts (Wilson und Dixon, 1973). Außerdem sind Fälle beschrieben nach Exposition mit organischen Lösungsmitteln, nach Applikation verschiedenster Medikamente und bei malignen Tumorleiden (Beirne und Brennan, 1973; Glassock et al., 1981).

Die RPGN ist eine relativ seltene Erkrankung; unter allen bioptisch gesicherten Glomerulonephritiden macht sie lediglich 3% aus. Der Erkrankungsgipfel liegt zwischem dem 30. und 50. Lebensjahr, Männer sind etwa doppelt so häufig befallen wie Frauen (Bohle et al., 1984).

### 1.1.3. Histologie und Klassifikation der RPGN

Lichtmikroskopisch imponiert die RPGN als schwere mesangioproliferative Glomerulonephritis mit diffuser Halbmondbildung. Die als Halbmonde bezeichneten extrakapillären Zellproliferationen lassen sich in 80-100% der vorhandenen Glomeruli nachweisen, sie füllen den Bowmanschen Kapselraum in typischer Weise aus und drängen das glomeruläre Konvolut zusammen (Bohle et al., 1984). Früher wurde angenommen, daß an der Bildung dieser Halbmonde viszerale und parietale Epithelzellen beteiligt sind (Bacani et al., 1968; Churg et al., 1973; Gabbert und Thoenes; 1977), inzwischen konnte jedoch mit Hilfe monoklonaler Antikörper gezeigt werden, daß ein großer Anteil ihrer zellulären Komponenten aus Makrophagen/Monozyten besteht (Atkins et al., 1982; Müller et al., 1984). Daneben sind in den Halbmonden Fibrinpräzipitate und Thrombozytenaggregate nachweisbar (Bacani et al., 1968; Gärtner et al., 1978), gelegentlich treten Kapillarthromben und Nekrosen einzelner Glomerulusschlingen auf (Bohle et al., 1984).

Elektronenmikroskopisch lassen sich Rupturen der glomerulären Basalmembran nachweisen (Min et al., 1974).

Mit Hilfe der Immunhistologie und aufgrund serologischer Befunde wird die idiopathische Form der RPGN in drei Untergruppen eingeteilt (Glassock et al., 1981; Stilmant et al., 1979):

RPGN Typ I. Bei ungefähr einem Drittel der Patienten zeigen sich in der Immunfluoreszenz lineare Ablagerungen von IgG, meist auch von C3, entlang der glomerulären Basalmembran (GBM) und im Serum komplementaktivierende Antikörper vom IgG-Typ, die gegen Strukturen der GBM gerichtet sind. Diese Form der RPGN wird deshalb als Antibasalmembranglomerulonephritis bezeichnet und zu den Autoimmunerkrankungen gerechnet (Lerner et al., 1967; Rees et al., 1979; Wilson und Dixon, 1973).

RPGN Typ II. Die häufigste Form der idiopathischen RPGN imponiert in der Immunfluoreszenz mit einem granulären Färbemuster entlang der GBM (subendothelial) und vereinzelt auch im Mesangium, welches durch Immunkomplexe aus IgG, C3, gelegentlich IgM , selten IgA und verschiedensten Antigenen hervorgerufen wird (Beirne et al., 1977; Gärtner et al., 1978; Neale und Wilson, 1982). Im Serum dieser Patienten lassen sich häufig zirkulierende Immunkomplexe nachweisen. Aufgrund dieser Befunde handelt es sich um eine Immunkomplexnephritis. Immunkomplexe können sowohl im Blutkreislauf, als auch in situ in der Niere entstehen (Couser und Salant, 1980; Fleuren et al., 1980; Glassock et al., 1981).

RPGN Typ III. Diese eher seltene Variante der RPGN bietet in der Immunfluoreszenz einen negativen Befund. Im Serum der Patienten finden sich weder Anti-GBM-Antikörper, noch Immunkomplexe (Stilmant et al., 1979).

### 1.1.4. Prognose und Therapie der RPGN

Die Prognose der RPGN korreliert negativ mit der Anzahl der Halbmonde, die sich im Nierenbiopsiematerial vorfindet (Habib, 1970). Außer den glomerulären Veränderungen ist jedoch die Mitbeteiligung des tubulointerstitiellen Systems entscheidend für den weiteren Verlauf und die Wiederherstellung der Nierenfunktion (Bohle et al., 1984).

Eine spontane Remission ist nur bei 10% der Erkrankten zu erwarten (Renner, 1982). Am günstigsten ist die Prognose bei Kindern nach Streptokokkeninfekten, am schlechtesten beim Goodpasture-Syndrom (Cameron, 1979; Sonsino et al., 1972).

Durch Anwendung moderner Therapieverfahren wie Plasmapherese und immunsuppressive Medikamente gelang es jedoch, die Remissionsraten

deutlich zu verbessern (Bolton und Couser, 1979; Cameron et al., 1984; Lockwood et al., 1976; Müller und Risler, 1985a; Oredugba et al., 1980). Seitdem die Möglichkeit zur chronischen Hämodialysebehandlung und Nierentransplantation besteht, hat sich die Prognose der RPGN auch quoad vitam entscheidend gebessert (Cameron, 1979; Renner, 1982).

### 1.1.5. Vorstellungen zur Pathogenese der RPGN

Obwohl die idiopathische RPGN klinisch und morphologisch als Entität erscheint, deuten die unterschiedlichen Konstellationen in der Immunfluoreszenz und Immunserologie darauf hin, daß den drei Untergruppen verschiedene pathogenetische Mechanismen zugrunde liegen.

Zur Lokalisation und Akkumulation von Immunkomplexen (IK) an der GBM können drei differente Abläufe führen (Cameron, 1979, 1982):

1. Spezifische Antikörper binden an ein GBM-Antigen (RPGN Typ I) (Lerner et al., 1967; Masugi, 1934; Wilson und Dixon, 1973).

2. Lösliche IK, die in der Zirkulation entstanden sind, lagern sich an der GBM ab (RPGN Typ II) (Glassock et al., 1978, 1981).

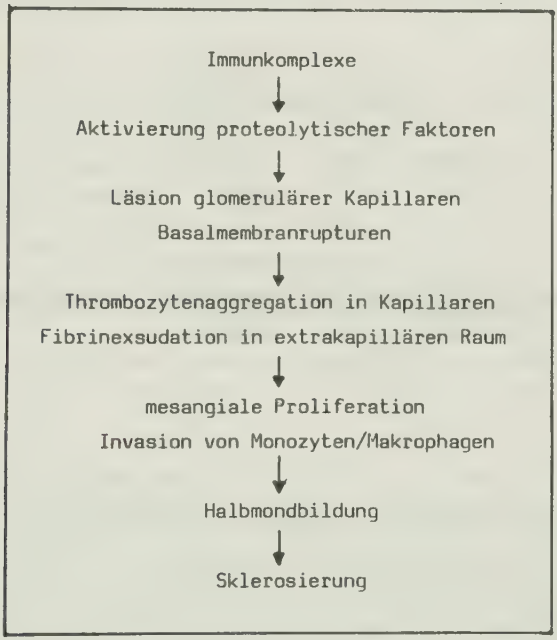
3. IK entstehen in situ durch Reaktion eines spezifischen Antikörpers mit einem zuvor in der GBM implantierten Antigen (RPGN Typ II) (Couser und Salant, 1980; Fleuren et al., 1980; Vogt und Batsford, 1982).

Durch die nun vorhandenen IK entlang der GBM, die bereits Folge von abgelaufenen immunologischen Reaktionen sind, werden im Glomerulus weitere humorale und zelluläre Reaktionen hervorgerufen, welche zu den beschriebenen morphologischen und pathophysiologischen Veränderungen in der Niere führen (Couser, 1985; Killen et al., 1982; Renner, 1982; Wilson und Dixon, 1981). Dabei kommt es zur Aktivierung zahlreicher Systeme - Gerinnungs-, Fibrinolyse-, Hagemanfaktor-, Kinin- und Komplementsystem (Beirne et al., 1977; Gabbert und Thoenes, 1978; Glassock, 1978, Wells und Henney, 1982) - und verschiedener Zellpopulationen - Thrombozyten, Lymphozyten, Monozyten/Makrophagen, Mesangiumzellen, Endothelien (Bhan et al., 1978; Min et al., 1974; Sterzel et al., 1982; Striker et al., 1979) -. In Abbildung 1 sind diese propagierten Pathomechanismen zusammengefaßt.

Nicht näher geklärt sind bislang die Wechselwirkungen zwischen den ortsständigen Zellen einerseits - Epithelien, Kapillarendothelien, Mesangiumzellen, Makrophagen - und den infiltrierenden Zellen und anderer- - Thrombozyten, Granulozyten, Lymphozyten, Monozyten -, insbesondere

die Rolle der immunkompetenten Zellen.

Abbildung 1:
Pathogenetische Vorgänge bei der RPGN (nach Cameron, 1982)




## 1.2. Das HLA-System

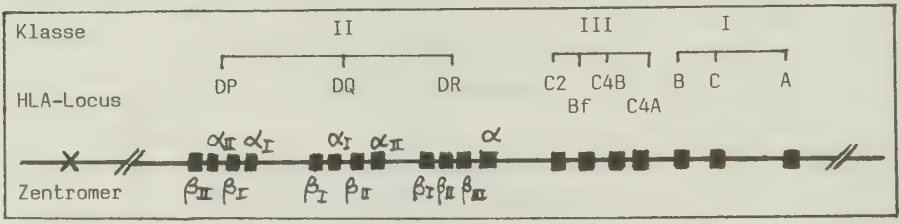
### 1.2.1. Charakterisierung des HLA-Systems

Dausset entdeckte 1954 die ersten Leukozytenantigene und begründete vier Jahre später das HLA-System (HLA = human leucocyte antigen) (Dausset, 1954, 1958). Daraus etablierte sich in der vergangenen Jahren ein äußerst polymorphes Alloantigensystem (Bodmer und Bodmer, 1978; Dausset, 1981).

Die Leukozytenantigene sind membranständige Glykoproteine, die mit unterschiedlichem Verteilungsmuster auf kernhaltigen Körperzellen und Thrombozyten exprimiert werden (Bodmer, 1984; Kaufmann et al., 1984). Kodiert werden sie von einer Gruppe von Genen, die zum Haupthistokom-

patibilitätskomplex (MHC = major histocompatibility complex) gehören und sich beim Menschen auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6 befinden (Bach und van Rood; 1976; Francke und Pellegrino, 1977). Abbildung 2 gibt die Anordnung der bislang bekannten und von der 9. Arbeitstagung für Histokompatibilitätstestung offiziell benannten MHC-Loci des Menschen wieder (Bodmer, 1984; Dausset und Cohen, 1984; Steinmetz und Hood, 1983).

Abbildung 2: kurzer Arm des menschlichen Chromosoms 6




1.2.2. Klassifikation und Struktur der HLA-Moleküle

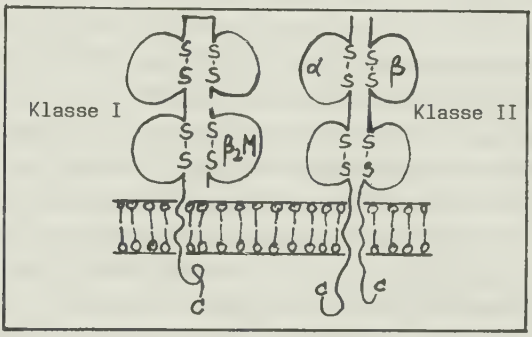
Wegen ihrer unterschiedlichen chemischen Struktur und biologischen Funktion werden die Histokompatibilitätsantigene und die sie kodierenden Gene des MHC in drei Klassen eingeteilt (Bodmer, 1981; Dausset, 1981; Klein, 1979).

Zu den Klasse I-Molekülen gehören die von drei verschiedenen Genloci kodierten Merkmale HLA-A, -B und -C (Bach und van Rood, 1976). Diese Antigene wurden serologisch mit dem komplementvermittelten zytotoxischen Test auf Lymphozyten charakterisiert (Terasaki und McClelland, 1964; Engelfriet und Britten, 1965).

Jedes Klasse I-Molekül besteht aus zwei Ketten, die nicht kovalent miteinander verbunden sind. Die schwere Kette, ein variables Glykoprotein mit einem Molekulargewicht (MG) von 44.000d (d = Dalton), trägt die Alloantigendeterminante (Barnstable et al., 1978). Bei der leichten Kette handelt es sich um ein konstantes 12.000d schweres Protein (Grey et al., 1973), das $\beta_2$-Mikroglobulin, welches von einem Gen außerhalb des MHC auf dem menschlichen Chromosom 15 kodiert wird (Goodfellow et al., 1975). Das gesamte Klasse I-Molekül ist mit dem Karboxylende der

schweren Kette in der Zellmembran verankert (Barnstable et al., 1978) wie in Abbildung 3 dargestellt.

Abbildung 3:
Struktur der Klasse I- und Klasse II-Moleküle (Steinmetz und Hood, 1983; Thorsby, 1983)




Für die Klasse II-Moleküle sind bislang drei kodierende Genregionen innerhalb des MHC benannt, nämlich HLA-DP, -DQ und -DR (Albert et al., 1984). Ihre Produkte DQ - zunächst als DC (Tosi et al., 1978) und MB (Duquesnoy et al., 1979) bezeichnet - und DR (Ceppellini und van Rood, 1974) wurden mit Hilfe des modifizierten Lymphozytotoxizitätstests charakterisiert (Bland und Joysey, 1980; van Rood et al., 1975). Die Antigene DP - initial als SB bezeichnet (Shaw et al., 1981) - ließen sich bislang nur mit einer zellulären Methode, dem PLT (primed LD typing) nachweisen (Sheehy et al., 1975).

Die Klasse II-Antigene setzen sich aus zwei glykosilierten Polypeptidketten, die nicht kovalent miteinander verbunden sind, zusammen. Bei den zur Zeit am besten untersuchten HLA-DR-Molekülen ist die schwere α-Kette ein konstantes Molekül von 34.000d (Shackelford et al., 1982) und Produkt des Genlocus DRα (Steinmetz und Hood, 1983). Die leichte ß-Kette kann dagegen von drei verschiedenen Loci $DR\beta_I$, $DR\beta_{II}$ und $DR\beta_{III}$ kodiert werden (Beckmann, 1984; Dick, 1982). Sie besitzt ein MG zwischen 29.000d und 30.000d (Barnstable et al., 1978) und trägt die Alloantigendeterminante (Kaufmann et al., 1984). Beide Ketten sind mit ihren Karboxylenden in der Lipidmembran der Zelle verankert (Bodmer,

1981; Steinmetz und Hood, 1983; Thorsby, 1983) wie in Abbildung 3 zu sehen. Die Antigene HLA-DQ und -DP sind, soweit untersucht, analog den DR-Molekülen konstruiert, können allerdings von jeweils zwei $\alpha$- und $\beta$-Genen kodiert werden (Bodmer, 1984; Dausset und Cohen, 1984).

In Tabelle 1 sind alle im letzten internationalen Workshop für Histokompatibilität definierten HLA-Klasse I- und II-Antigene aufgeführt (Albert et al., 1984). Das "w" bei manchen Allotypen bedeutet, daß diese noch nicht hinreichend sicher charakterisiert und nur vorläufig benannt sind (w = workshop). Im Unterschied dazu sind alle HLA-C-Spezifitäten mit "w" bezeichnet, um nicht mit den Komplementfaktoren, die von C1 bis C9 durchnummeriert sind, verwechselt zu werden.

Die Klasse III-Gene befinden sich zwischen den Klasse I- und II-Genen auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6, ihre exakte Anordnung ist noch nicht endgültig geklärt (Bodmer, 1984; Caroll et al., 1984). Sie kodieren für die Komplementfaktoren C2, C4A und C4B und den Properdinfaktor Bf (Kömpf et al., 1977, Lachmann und Hobart, 1978). Auch bei den Klasse III-Genen besteht ein elektrophoretisch nachgewiesener Polymorphismus. In Tabelle 2 sind die eindeutig definierten Allospezifitäten der Klasse III zusammengefaßt (Rittner und Mauff, 1984; Serjeantson, 1984).

Den Produkten dieser Genregion gemeinsam ist ihre Proteaseaktivität und ihr Vorkommen im Serum. Die Faktoren C2 und C4A/B sind an der klassischen Aktivierung des Komplementsystems beteiligt, der Faktor Bf partizipiert am alternativen Weg der Komplementaktivierung (Cooper, 1982).

### 1.2.3. Genetik und Funktion des HLA-Systems

Seine entscheidende Rolle spielt der MHC vermutlich bei der Regulation des Immunsystems (Stobo, 1982). Den HLA-Molekülen kommen dabei verschiedenste Aufgaben zu. Sie funqieren als Selbsterkennungsmerkmale für T-Lymphozyten, die dazu mit einem speziellen Rezeptor ausgestattet sind (Marrack und Kappler, 1986). Während B-Lymphozyten lösliche Antigene mit Hilfe ihrer membranständigen Immunglobuline als Rezeptoren erkennen, sind T-Zellen nicht in der Lage, freie Antigene zu binden. Sowohl T-Helferzellen, als auch zytotoxische T-Zellen können Fremdantigene nur bei gleichzeitiger Anwesenheit von HLA-Molekülen erkennen. Für die T-zellvermittelte Lyse virusinfizierter Zellen sind Klasse I-Antigene unabdingbar (Doherty und Zinkernagel, 1975; Shearer und Schmitt-Verhulst, 1977). Die Antigenpräsentation durch Makrophagen an T-Helferzellen ist abhängig von Klasse II-Molekülen (Heber-Katz et al.,

1982; Thorsby, 1983). Bei der Transplantatabstoßung wirken vermutlich HLA-Moleküle als Zielantigene (Klein, 1979; Ploegh et al., 1981), weshalb sie von manchen Autoren auch als Transplantationsantigene bezeichnet werden (Zinkernagel und Doherty, 1979). Für das Überleben von Nierentransplantaten beim Menschen ist die Übereinstimmung des HLA-Musters bei Spender und Empfänger von großer Bedeutung (Müller et al., 1980, 1983; Opelz und Terasaki, 1977). Klasse II-Gene regulieren die Art und Weise der Immunantwort sowohl qualitativ (humorale oder zelluläre Antwort), als auch quantitativ (starke oder schwache Antwort), des Weiteren die Immunreaktion vom verzögerten Typ und die allogene T-Zellproliferation in der MLC (mixed lymphocyte culture) und beim PLT (Bach und Voynow, 1966; Benacerraf, 1981; Dupont et al., 1973; Glassy, 1982; Kaufmann et al., 1984). Darüber hinaus können HLA-Antigene als Rezeptoren dienen, als Differenzierungsantigene exprimiert werden und auch an nicht immunologischen Zellinteraktionen beteiligt sein (Dausset, 1981; Radka et al., 1986; van Rood, 1986). Zentrale Bedeutung kommt den MHC-Genen und ihren Produkten beim effizienten Zusammenwirken der immunkompetenten Zellen zu, z.B. bei der Signalübertragung von T-Zellen zu B-Zellen und Makrophagen (Bodmer, 1984; Dausset und Cohen, 1984; Kaufmann et al., 1984; Thorsby, 1983).

Für viele Allotypen des HLA-Systems sind Kopplungsungleichgewichte beschrieben; das heißt, bestimmte Allelkombinationen finden sich häufiger in einer Population als man statistischerseits erwarten würde. Solche Sätze von Allelen auf einem Chromosomenabschnitt werden Haplotypen genannt. Jedes Individuum besitzt zwei MHC-Haplotypen, die ihm jeweils von einem Elternteil vererbt wurden (Awdeh et al., 1983; Dausset, 1981; Grange et al., 1984). Bei der Maus konnte gezeigt werden, daß ein Genlocus T/t in der Nähe der H-2-Region, dem MHC der Maus (Klein, 1975), auf dem Chromosom 17 existiert. Sein T-Allel bewirkt, daß crossing-overs im H-2-System unterdrückt und bestimmte Allelkombinationen über viele Generationen unverändert vererbt werden (Bennett, 1975). Auch beim Menschen könnten die bekannten Kopplungsungleichgewichte und das gehäufte Vorkommen spezieller Haplotypen bei bestimmten Krankheiten auf einen T/t-ähnlichen Locus in der Nähe der HLA-Region hindeuten (Alper et al., 1982; Davis, 1983).

1.2.4. HLA und Krankheit

Seitdem Assoziationen zwischen HLA-Merkmalen und Krankheiten nachgewiesen sind, ist bekannt, daß die Empfänglichkeit eines Individuums für bestimmte Erkrankungen durch MHC-Gene beeinflußt wird. Die stärkste und gleichzeitig bekannteste Assoziation besteht zwischen HLA-B27 und Morbus Bechterew (Brewerton et al., 1973). Sowohl in Tierexperimenten, als auch beim Menschen konnten zahlreiche Defekte bei T-Regulatorzellen unter dem Einfluß des MHC oder eng gekoppelter Gene beschrieben werden (Debre et al., 1975; Marsh et al., 1982; McDevitt et al., 1969; Munro und Waldmann, 1978; Sasazuki et al., 1980b). Der größte Teil der HLA-assoziierten Erkrankungen imponiert durch immunologische Phänomene und bislang nicht geklärte Pathomechanismen (Schwartz, 1982).

## 1.3. Fragestellung

Welche Bedeutung kommt dem MHC in der Pathogenese der idiopathischen RPGN Typ II zu? Besteht ein Zusammenhang zwischen der Empfänglichkeit der Erkrankung und genetischen Merkmalen des HLA-Systems?

Gibt es genetische Gemeinsamkeiten zwischen der idiopathischen RPGN Typ II und anderen immunologischen Erkrankungen, insbesondere anderen Glomerulonephritiden?

Speziell interessiert die Frage, ob zwischen der idiopathischen RPGN Typ II(Immunkomplexnephritis) und dem Goodpasture-Syndrom(Antibasalmembranglomerulonephritis und -alveolitis), welche mit den gleichen morphologischen(lichtmikroskopischen) und pathophysiologischen Veränderungen der Niere einhergehen, entsprechend ihrem unterschiedlichen Pathomechanismus auch Differenzen hinsichtlich ihrer Immungenetik existieren.

## 2. MATERIAL UND METHODIK

### 2.1. Patienten

Insgesamt wurden 24 süddeutsche Patienten, die nicht miteinander verwandt waren, untersucht. Bei allen bestand zum Zeitpunkt der diagnostischen Nierenpunktion eine Einschränkung der Nierenfunktion und klinisch der dringende Verdacht auf eine RPGN. Bei keinem konnten im Serum Anti-GBM-Antikörper nachgewiesen werden, ebenfalls negativ fielen die Untersuchungen auf Anti-DNS-Antikörper und anti-nukleäre-Faktoren aus.

Bei allen Patienten konnte die Diagnose einer RPGN histologisch gesichert werden. Lichtmikroskopisch fanden sich jeweils die typischen morphologischen Veränderungen, wie in der Einleitung beschrieben. In der Immunfluoreszenz zeigten sich granuläre Ablagerungsmuster vom Typ einer Immunkomplexnephritis. Bei 19 Patienten wurde IgG, bei 10 IgM, bei 4 IgA und bei 13 C3 entlang der GBM nachgewiesen.

Aufgrund der anamnestischen, klinischen, laborchemischen und histologischen Konstellation konnte bei allen 24 Patienten eine sekundäre RPGN ausgeschlossen und eine idiopathische RPGN Typ II diagnostiziert werden.

Zehn Patienten waren weiblich mit einem Durchschnittsalter von 44,4 Jahren und einer Altersverteilung von 14 bis 72 Jahren. Die vierzehn männlichen Patienten waren durchschnittlich 47,6 Jahre alt bei einer Altersverteilung von 22 bis 76 Jahren. Das Durchschnittsalter aller Untersuchten betrug 46,0 Jahre, das Verhältnis von Männern zu Frauen entsprach 1,4 : 1,0.

Zur Durchführung der immungenetischen Untersuchungen wurden jedem Patienten mindestens 40ml heparinisiertes Blut und 5ml Nativblut venös entnommen. Das aus dem Nativblut gewonnene Serum wurde zur elektrophoretischen Properdinfaktorbestimmung verwandt. Aus dem Heparinblut wurden die Lymphozyten isoliert und selbige zur HLA-Serologie benutzt. Die Aufarbeitung aller Blutproben erfolgte möglichst rasch nach Entnahme.

## 2.2. Lymphozytengewinnung

### 2.2.1. Material und Reagenzien

- Thromboliquine, Heparin-Na (Organon Teknika, Oberschleißheim)
- Hank's B.S.S., Ca und Mg frei, ohne Phenolrot (Seromed, Biochrom KG, Berlin)
- Lymphoprep TM, Dichte 1,077g/ml (20°C) (Nyegaard & Co A/S, Oslo, Norwegen)

### 2.2.2. Technik der Lymphozytengewinnung

50ml Venenblut werden mit 2.500 I.E. Thromboliquine versetzt und mit 50ml Hank's B.S.S. verdünnt. In 50ml fassende Zentrifugenröhrchen legt man jeweils 15ml Lymphoprep vor und schichtet mittels Pipette 30ml des verdünnten Blutes darauf. Bei 670g und 20°C wird 30min lang zentrifugiert. Dabei sammeln sich Lymphozyten und Monozyten auf einer dünnen Schicht über dem Dichtegradienten an, von wo sie mit einer Pipette abgehebert werden. Erythrozyten und Granulozyten mit größerer Dichte sedimentieren, während Plasma und Thrombozyten im Überstand verbleiben (Boyum, 1968). Den gesamten Vorgang der Lymphozytenisolierung aus peripherem Blut durch freie Flotation über einen Dichtegradienten zeigt die Abbildung 4.

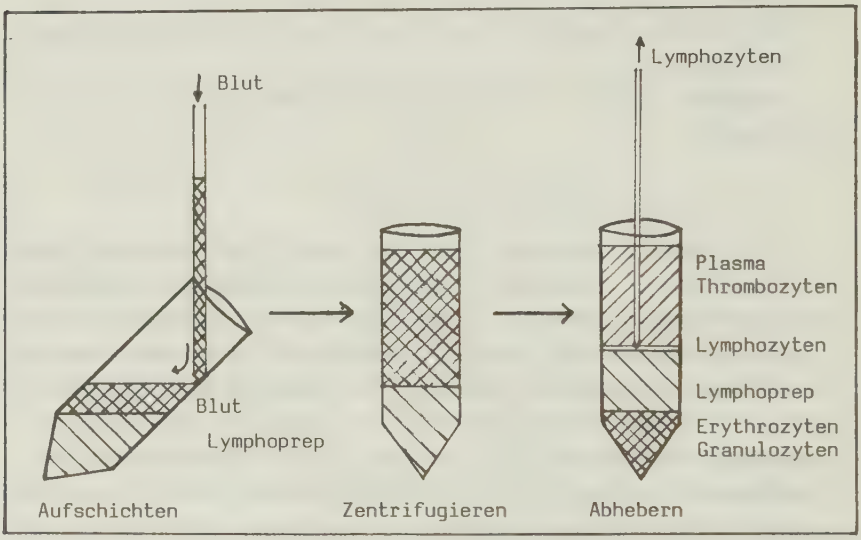
Die abgeheberten Zellen werden zweimal in Hank's B.S.S. bei 170g und 4°C 10min lang gewaschen, nach jedem Zentrifugationsvorgang wird der Überstand abgekippt und das Lymphozytensediment resuspendiert (Danilovs et al., 1980).

## 2.3. Lymphozytentrennung

### 2.3.1. Material und Reagenzien

- Lymphostabil aus:
  5% foetales Kälberserum (Biochrom KG, Seromed, Berlin)
  95% RPMI-1640 (1X), mit L-Glutamin, mit 25ml Hepes (Gibco Ltd., Paisley, Schottland)
- Nylonwatte Leuko Pak, Leucocyte Filter (Fenwal Laboratories, München)
- Kunststofftrinkhalme mit 5mm Durchmesser

Abbildung 4: Technik der Lymphozytengewinnung durch freie Flotation über Dichtegradienten (Bøyum, 1968)




2.3.2. Technik der B/T-Zelltrennung

Bei der nachfolgend beschriebenen Methode macht man sich das unterschiedliche Verhalten der Lymphozytensubpopulationen gegenüber Filtermaterialien zunutze. B-Lymphozyten haften an Nylonwatte, T-Lymphozyten dagegen nicht (Handwerger und Schwartz, 1974).

In einen Kunststofftrinkhalm von 15cm Länge werden 6mg Nylonwatte gestopft, so daß an einem Ende des Halms eine Wattesäule von ungefähr 6cm Höhe entsteht. Diese Wattesäule wird mit 37°C warmem Lymphostabil durchgespült. Nach 30-minütiger Inkubation bei 37°C werden auf die noch warme und feuchte Wattesäule $20 \times 10^6$ Lymphozyten, die in 500µl Lymphostabil suspendiert sind, so aufgetragen, daß sie sich gleichmäßig über die gesamte Watte im Halm verteilen. Danach legt man den Halm horizontal, füllt den freien Raum über der Wattesäule zum Schutz gegen Austrocknen mit Lymphostabil und inkubiert nochmals für 30min bei 37°C. Anschließend wird der Trinkhalm mit der Wattesäule nach unten senkrecht

über ein leeres 10ml fassendes Zentrifugenröhrchen gehalten und mit 7ml Lymphostabil durchgespült; in dem aufgefangenen Spülmedium befinden sich die nicht-adhärenten T-Lymphozyten. Zuletzt wird der Trinkhalm über einem neuen Zentrifugenröhrchen plaziert. Unter portionierter Zugabe von insgesamt 7ml Lymphostabil streift man die Wattesäule mehrfach von oben nach unten aus; die adhärenten B-Lymphozyten werden dadurch aus der Nylonwatte entfernt und reichern sich im Spülmedium an (Danilovs et al., 1980; Lowry et al., 1978; Müller et al., 1980).

Beide Zellsorten werden wie oben beschrieben zweimal mit Hank's B.S.S. gewaschen und anschließend in einer Zählkammer ausgezählt. Durch Aufschwemmen mit Hank's B.S.S. stellt man schließlich von jeder Zellsorte eine Suspension mit 4.000 Zellen/µl her. Diese wird dann beim lymphozytotoxischen Test verwandt.

## 2.4. HLA-Serologie

### 2.4.1. Material und Reagenzien

- PS-Mikrotestplatte (Greiner, Nürtingen)
- Decköl: Paraffin flüssig (Merck, Darmstadt)
- Eosin, gelblich (Merck, Darmstadt)
- Formaldehydlösung, mind. 35%, reinst (Merck, Darmstadt)
- Hank's B.S.S., Ca und Mg frei, ohne Phenolrot (Biochrom KG, Seromed, Berlin)
- Kaninchenkomplement (Dr. Lötterle, Institut f. Rechtsmedizin, Erlangen)
- AB-Serum als Leerwertkontrolle
- w6.32.HL, Anti-HLA-ABC-Antikörper (schwere Ketten) als positive Kontrolle (Barnstable et al., 1978)
- Tü 35, Antikörper gegen B-Zellen als positive Kontrolle dieser Lymphozyten Subpopulation (Shaw et al., 1984)
- Satz von HLA-Antiseren und monoklonalen Antikörpern, dieser umfaßte 240 Reagenzien zur Typisierung der Klasse I-Antigene und 100 Reagenzien zur Bestimmung der Klasse II-Merkmale HLA-DR und -MT, darin waren sowohl lokale, als auch internationale Antiseren und monoklonale Antikörper enthalten

2.4.2. Standard-Lymphozytotoxizitätstest

Dieses Verfahren dient der Bestimmung der Klasse I-Antigene HLA-A, -B und -C und wird mit den an Nylonwatte nicht-adhärenten Zellen durchgeführt (Engelfriet und Britten, 1965; Terasaki und McClelland, 1964). Die zu testenden Lymphozyten werden zunächst mit jeweils einem HLA-Antiserum, bzw. monoklonalen HLA-Antikörper zusammengebracht. Tragen die Zellen das HLA-Merkmal, gegen das der im Testreagenz vorhandene Antikörper gerichtet ist, bildet sich auf ihrer Zellmembran ein Antigen-Antikörper-Komplex. Dadurch wird das zugegebene Kaninchenkomplement auf klassischem Weg über C1q bis C9(membrane attack complex) aktiviert und die Zellmembran irreversibel geschädigt, sodaß der zugefügte Farbstoff in die Zelle eindringen kann. Tragen die Lymphozyten das entsprechende HLA-Merkmal nicht, findet keine Immunkomplexbildung, keine Komplementaktivierung und keine zytotoxische Reaktion statt; in die Zellen dringt kein Eosin ein, sie bleiben nativ, ungefärbt.

Zunächst werden alle Näpfchen einer Mikrotestplatte mit Decköl als Verdunstungsschutz für die nachfolgend zuzugebenden Flüssigkeiten gefüllt. Dann wird die gesamte Platte in einer festgelegten Reihenfolge mit HLA-Reagenzien beschickt, das heißt, in jedes Näpfchen wird 1µl eines HLA-Antiserums, bzw. monoklonalen Antikörpers gegeben. Auf jeder Platte können auf diese Art und Weise 60 verschiedene Testreagenzien mit bekannter Spezifität plaziert werden. Anschließend wird in jedes Näpfchen 1µl Lymphozytensuspension, also ca. 4.000 Zellen, pipettiert. Die Mikrotestplatten werden dann bei 20°C für 30min inkubiert. Nun gibt man pro Näpfchen 5µl Kaninchenkomplement hinzu und inkubiert erneut bei 20°C für die Dauer von 70min. Zuletzt werden jeweils 5µl Eosin und 3min später 10µl Formaldehydlösung eingefüllt. Die Zellen sind damit fixiert, weitere Reaktionen finden nicht mehr statt. Die Auswertung der zytotoxischen Reaktion erfolgt, nachdem die Zellen sedimentiert sind. Dazu werden alle Näpfchen einer Mikrotestplatte unter einem Phasenkontrastmikroskop (Leitz, Wetzlar) betrachtet. Die toten Zellen erscheinen rot und etwas größer als die noch vitalen Zellen, die ungefärbt bleiben und hell leuchten. Der Anteil der gefärbten Zellen pro Näpfchen wird als Scorewert wie folgt angegeben:

getötete Zellen in %: bis 10 = 1, negativ;
bis 20 = 2, negativ;
bis 50 = 4, positiv;
bis 75 = 6, positiv;
bis 100 = 8, positiv.

Die Anzahl der schon zu Beginn des Tests toten Zellen wird durch die Leerwertkontrolle mit AB-Serum erfaßt. Der Scorewert des entsprechenden Näpfchens sollte daher nicht größer 1 sein; andernfalls wäre der Test nicht zu verwerten, da zuviel falsch positive Ergebnisse anfielen. In den Näpfchen mit den Positivkontrollen sollten dagegen alle Zellen lysiert sein, der Scorewert 8 betragen.

Um die HLA-Konstellation eines Patienten exakt beurteilen zu können, ist es erforderlich, alle möglichen Kreuzreaktionen der Testreagenzien zu kennen (Joysey und Wolf, 1978).

### 2.4.3. Modifizierter Lymphozytotoxizitätstest

Die Bestimmung der Klasse II-Merkmale HLA-DR und -MT erfolgt mit den an Nylonwatte adhärenten Zellen(B-Lymphozyten) mit Hilfe eines abgewandelten lymphozytotoxischen Tests (Bland und Joysey, 1980; Müller et al., 1980). Er unterscheidet sich vom Standardtest durch verlängerte Inkubationszeiten. Die Antigen-Antikörper-Phase dauert 60min, die Komplement-Phase 120min. Als Testreagenzien werden Antiseren, bzw. monoklonale Antikörper gegen Klasse II-Merkmale verwendet (van Rood et al., 1975).

## 2.5. Bestimmung der Properdinfaktorallele

### 2.5.1. Testprinzip

Die Auftrennung der Bf-Proteine als Produkte der Properdinfaktorallele erfolgt aus Serum mit Hilfe der Elektrophorese. Ein Gel wird mit Patientenserum beschickt, nach Anlage eines elektrischen Feldes wandern die im Serum enthaltenen Ionen je nach ihrer Ladung, die Bf-Proteine als Anionen Richtung Anode. Die verschiedenen Bf-Allele unterscheiden sich in ihrer Wanderungsgeschwindigkeit, so daß sie nach Abschalten des elektrischen Feldes an unterschiedlichen Stellen auf dem Gel zu liegen kommen. Sie werden mit einem monoklonalen Antikörper, der ein gemeinsames Epitop auf allen Bf-Proteinen erkennt, gekoppelt.

Der Antikörper bindet einen anschließend aufgetragenen Farbstoff, sodaß die Bf-Allele indirekt als Banden auf dem Gel sichtbar werden (Alper und Johnson, 1969, 1972).

2.5.2. Material und Reagenzien

- Stärke-Hydrolysat zur Gelelektrophorese (Connaught Laboratories Ltd., Willowdale, Ontario, Canada)
- Gelpuffer aus:
  0,2M TRIS-HCl, pH 8,9; Tris-(hydroxymethyl-)aminomethan, pro analysi (Merck, Darmstadt)
- Brückenpuffer aus:
  0,1M TRIS, pH 8,3
  1,0M Glycin, pro analysi (Merck, Darmstadt)
- Anti-Human Properdinfactor B (Atlantic Antibodies, Boston, USA)
- Serva Blau G, Äquivalent zu Coomassie Brillantblau G-250 (Serva, Heidelberg)
- NaCl 0,9%, isotone Lösung
- Lösungsmittel aus:
  Essigsäure 7%
  Äthanol 5%
  in aqua destillata, Ampuwa (Fresenius, Bad Homburg)

2.5.3. Stärkegelelektrophorese

Die Auftrennung der Bf-Proteine aus den Patientenseren erfolgt mit Hilfe der horizontalen Stärkegelelektrophorese. Zur Anwendung kommt ein diskontinuierliches Puffersystem, modifiziert nach Göhler (1976).

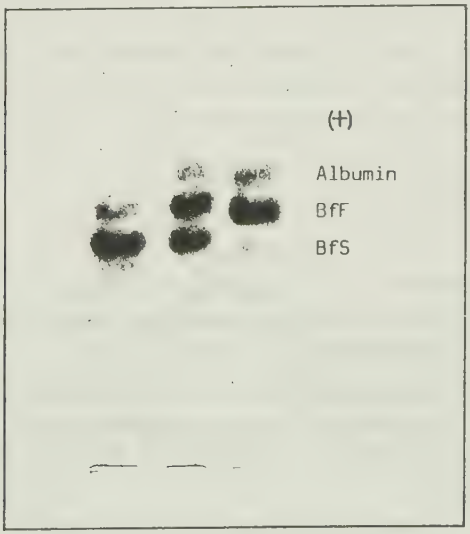
150g Stärkehydrolysat werden mit 1.000ml Gelpuffer gekocht und anschließend auf eine Kühlplatte gegossen. Das erkaltete Gel wird mit jeweils 10µl der zu untersuchenden Seren beschickt, indem diese nebeneinander auf einer gemeinsamen Startlinie in zuvor ausgestanzte Vertiefungen eingefüllt werden. Die Elektrophorese läuft initial mit 2V/cm und ca. 85mA bei 12°C (Wasserkühlung) und ist beendet, wenn die Pufferfront das anodische Brückenpapier erreicht hat. Dieses ist in der Regel nach 12h der Fall. Zur weiteren Verarbeitung wird nicht das gesamte Gel verwendet, sondern nur eine 2mm dicke Schicht, die mit Hilfe einer Drahtschlinge horizontal aus der Mitte des Gels herausgeschnitten wird.

2.5.4. Immunfixation

Der Nachweis der Bf-Proteine auf dem Gel erfolgt mit Hilfe der Immunfixationstechnik, modifiziert nach Alper und Johnson (1969).

Dazu wird das Gel mit Anti-Human Properdinfactor B, der zuvor im Verhältnis 1:1 mit isotoner Kochsalzlösung verdünnt wurde, bedeckt und für 2h in einer feuchten Kammer bei Zimmertemperatur inkubiert. Das Entfernen des überschüssigen Antiserums erfolgt durch zweistündiges Pressen des Gels mit Filterpapier und anschließendes Wässern in isotoner Kochsalzlösung für 10h. Danach wird 1g Serva Blau G in 100ml des vorbereiteten Lösungsmittels solviert. Dieses so gewonnene Färbemedium wird auf 60°C erhitzt und warm über das Gel gegossen. Nach 10min kippt man die Farblösung ab und spült das Gel in reichlich Lösungsmittel klar.

Abbildung 5: Darstellung des elektrophoretischen Polymorphismus der Properdinfaktorallele BfS und BfF (Alper et al., 1972)



### 2.5.5. Zymogramm

Bei der abschließenden Betrachtung des Gels über einer Lampe sind die blau angefärbten Properdin-Banden zu erkennen. Sie liegen ungefähr 6cm vom Start aus anodisch. Die homozygoten Patienten weisen einzelne Banden, die heterozygoten Doppelbanden auf. Die verschiedenen Bf-Allotypen lassen sich anhand ihrer Farbintensität und Lokalisation auf dem Gel unterscheiden. Außer den beiden häufigen Allelen BfS (S = slow) und BfF (F = fast) können anodisch von BfS und kathodisch von BfF weitere Banden erscheinen, die den seltenen Allelen BfS1 und BfF1 entsprechen (Alper et al., 1972).

## 2.6. Statistische Verfahren

Für jedes in der Patientengruppe typisierte MHC-Allel wurde die relative Häufigkeit berechnet. Die HLA-Frequenzen der Patienten wurden mit denen einer lokalen Kontrollgruppe (Panel des HLA-Labors der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen), die 151 Normalpersonen umfaßte, verglichen. Die Bf-Frequenzen der Patienten wurden denen in einer 656 Personen umfassenden südwestdeutschen Kontrollgruppe (Göhler, 1976) gegenübergestellt.

Unterschiede in der Verteilung der typisierten MHC-Merkmale zwischen Patienten und Kontrollen wurden mit Hilfe einer Vierfeldertafel auf ihre statistische Wertigkeit hin überprüft.

Vierfeldertafel:

| | Merkmal | | |
|---|---|---|---|
| | pos | neg | Summe |
| Patienten | A | B | A+B |
| Kontrollen | C | D | C+D |
| Summe | A+C | B+D | A+B+C+D = N |

Wegen der relativ kleinen Patientenzahl von 24 wurde zur Berechnung des $X^2$-Wertes der Vierfeldertest mit Yates-Korrektur angewandt. Die Irrtumswahrscheinlichkeit p wurde entsprechend in $X^2$-Tabellen nachgeschlagen. Als statistisch signifikant wurden Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollen nur bei einem p kleiner 0,01 bezeichnet, was gängigen statistischen Auswertungen entspricht (Kollegium Biomathematik, 1976). Dieses relativ hohe Maß an statistischer Sicherheit bei einem p kleiner 0,01 bedeutet, daß Unterschiede in den Frequenzen der typisierten MHC-Merkmale mit mindestens 99%-iger Wahrscheinlichkeit nich zufällig, sondern tatsächlich sind.

$$X^2 = \frac{( AxD - BxC - \frac{N}{2} )^2 \times N}{(A+B)x(A+C)x(B+D)x(C+D)}$$

Das relative Risiko (RR) wurde mittels Vierfeldertafel gemäß der von Svejgaard et al. (1975) etablierten Methode wie folgt berechnet:

$$RR = \frac{A \times D}{B \times C}$$

Das RR gibt an, wieviel Mal häufiger sich eine Krankheit beim Träger eines bestimmten Merkmals manifestiert im Vergleich zur Häufigkeit derselben Erkrankung bei einem Individuum, das nicht im Besitz dieses Merkmals ist. Das RR dient als Maß für die Relevanz eines genetischen Markers bei der Entstehung einer Krankheit (Svejgaard et al., 1983).

# 3. ERGEBNISSE

Bei 24 unverwandten, süddeutschen Patienten mit idiopathischer RPGN Typ II wurden serologisch die HLA-Merkmale A, B, C, DR und MT und elektrophoretisch die Properdinfaktorallele Bf bestimmt. Die Typisierungsergebnisse aller Patienten sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Von den 23 bekannten Allelen des HLA-Locus A wurden in der Patientengruppe 9 gesehen. 18 Patienten typisierten für zwei verschiedene Allele, 6 für ein Allel.

Am HLA-Locus B, der mit 49 bekannten Spezifitäten den höchsten Polymorphismus innerhalb des HLA-Systems aufweist, exprimierten die Patienten insgesamt 26 Allele. 21 Patienten waren heterozygot, bei 3 ließ sich nur ein Allel nachweisen.

Für den HLA-Locus C sind 8 Allotypen bekannt, wovon 7 in der Patientengruppe vertreten waren. 10 Patienten exprimierten zwei Allele, 9 nur ein Allel. Bei 5 Patienten wurde kein C-Merkmal erfaßt.

Am HLA-Locus DR werden 14 Allele unterschieden, die 8 häufigsten waren in der Patientengruppe vertreten. Heterozygot typisierten 21 Patienten, nur ein Allel fand sich bei dreien.

19 Patienten waren für die MT-Merkmale heterozygot, 5 exprimierten nur eine MT-Spezifität.

Bei allen Patienten fanden sich ausschließlich die in der Normalbevölkerung mit 97,7% vertretenen Properdinallotypen BfS und BfF, Die seltenen Allele BfF1 und BfS1 wurden nicht gesehen.

In den Tabellen 4 - 9 sind die absoluten und relativen Häufigkeiten aller in der Patientengruppe vertretenen MHC-Merkmale den Allelfrequenzen der jeweiligen Kontrollgruppen gegenübergestellt. Für jeden Allotypen wurde das RR, $X^2$ mit Yates-Korrektur und p berechnet.

## 3.1. Verteilung der Klasse I-Antigene

Einige Allele der Klasse I traten in der Patientengruppe leicht vermehrt auf, so HLA-A32, -B27, -Bw50, -Bw53, -Bw57, -Cw1 und Cw7, andere dagegen wurden gering vermindert exprimiert, so HLA-A28, -B8, -B14, B44, -Cw5 und -Cw8. Die Frequenzen dieser Allotypen unterschieden sich jedoch nicht signifikant zwischen Patienten- und Kontrollkollektiven. Auch alle anderen typisierten Klasse I-Antigene waren in der Patientengruppe normalverteilt (Tabellen 4 - 6).

Insgesamt besteht somit keine Assoziation der idiopathischen RPGN Typ II zu Klasse I-Genen des MHC.

### 3.2. Verteilung der Klasse II-Antigene

Deutliche Unterschiede zwischen Patienten und Normalpersonen zeigten sich bei den Klasse II-Merkmalen.

Signifikant vermehrt in der Patientengruppe war HLA-DR2. 15 der 24 Patienten (62,5%) exprimierten diesen Allotypen, während er bei den Kontrollpersonen nur in 33,3% vertreten war ($p<0,01$). Für Träger des Merkmals HLA-DR2 beträgt das RR 3,33 (Tabelle 7).

Ebenfalls vermehrt kamen die Spezifitäten HLA-DR4 und -DR7 in der Patientengruppe vor. HLA-DR4 wurde bei 33,3% der Patienten, jedoch nur bei 20,9% der Kontrollen gesehen. 29,2% der Patienten typisierten positiv für HLA-DR7, hingegen nur 20,2% der Kontrollpersonen. Diese unterschiedlichen Allelfrequenzen erreichten jedoch kein statistisch signifikantes Niveau (Tabelle 7).

Erniedrigt war das Vorkommen von HLA-DR1 mit 12,5% in der Patientengruppe im Vergleich zu 20,2% bei den Normalpersonen. Ebenfalls vermindert exprimiert wurde HLA-DR3. Nur zwei Patienten (8,3%) trugen dieses Allel, während es in 28,6% der Kontrollen vertreten war. Diese Unterschiede in den Antigenfrequenzen waren jedoch weder für HLA-DR1, noch für HLA-DR3 statistisch signifikant (Tabelle 7).

Bei den MT-Merkmalen bestand ein deutlich signifikanter Unterschied für HLA-MT3. Diese Spezifität wurde von 15 der 24 Patienten (62,5%) exprimiert, dagegen nur von 30,8% der Kontrollpersonen ($p<0,01$). Für Individuen mit dem Merkmal HLA-MT3 besteht ein erhöhtes RR von 3,74 (Tabelle 8).

Die Frequenzen von HLA-MT1 und -MT2 unterschieden sich nicht signifikant zwischen Patienten und Kontrollen (Tabelle 8).

Aufgrund dieser Ergebnisse kann eine Assoziation der idiopathischen RPGN Typ II zu den Klasse II-Merkmalen HLA-DR2 und -MT3 konstatiert werden.

### 3.3. Verteilung der Properdinfaktorallele

Stark gehäuft war BfF in der Patientengruppe. Dieses Properdinallel wurde von 17 der 24 Patienten (70,8%), jedoch nur von 35,9% der Kontrollen exprimiert ($p<0,001$). Für Träger von BfF errechnete sich ein RR von

4,14. Der Anteil der am Bf-Locus vermutlich homozygoten Patienten mit BfFF war ebenfalls stark vermehrt. 7 der 24 Patienten (29,2%) typisierten nur für BfF positiv, bei den Kontrollen dagegen nur 3% ($p<10^{-5}$). Für homozygote Individuen mit BfFF beträgt das RR damit 13,8 (Tabelle 9). Auch die daraus resultierende Genfrequenz für BfF war signifikant erhöht. In der Patientengruppe betrug sie 0,50, in der Normalbevölkerung 0,199 ($p<10^{-6}$; $X^2=198,96$).

Das in der Kontrollgruppe mit 96,0% vertretene Properdinallel BfS fand sich bei 17 der 24 Patienten (70,8%) und war somit signifikant vermindert ($p<0,001$). Für BfS-positive Personen berechnete sich daraus ein RR von 0,10. Den 7 vermutlich homozygoten Patienten (29,2%) mit BfSS stehen 59,6% Kontrollen gegenüber ($p<10^{-5}$). Für homozygote Individuen mit BfSS resultiert ein erniedrigtes RR von 0,28 (Tabelle 9). Die Genfrequenz von BfS entsprach der von BfF, da in der Patientengruppe nur diese beiden Properdinfaktorallele gesehen wurden. Sie war mit 0,50 im Vergleich zur Kontrollgruppe mit 0,778 signifikant vermindert ($p<10^{-4}$; $X^2=18,605$).

Der Anteil der heterozygoten Patienten mit BfSF zeigte mit 41,7% keinen statistisch bedeutsamen Unterschied zu den Kontrollen, bei denen 32,9% Heterozygote vorhanden waren. Das RR für heterozygote Personen mit BfSF war mit 1,45 nur geringfügig erhöht (Tabelle 9).

Insgesamt bestehen deutlich signifikante Assoziationen der idiopathischen RPGN Typ II zu den beiden häufigsten Properdinfaktorallelen BfF und BfS, eine positive zu BfF, eine negative zu BfS.

### 3.4. Verteilung von Allelkombinationen

Alle 17 Patienten, die für HLA-MT1 positiv typisierten, trugen gleichzeitig HLA-DR1 oder -DR2. Sämtliche 12 Patienten mit dem Merkmal HLA-MT2 exprimierten zusätzlich HLA-DR3, -DR5, -DRw6 oder -DRw8. Bei allen HLA-MT3-positiven Patienten kam HLA-DR4 oder -DR7 vor (Tabelle 3).

Die Anzahl der Patienten, die sowohl für HLA-DR2, als auch für HLA-MT3 in Kombination typisierten, war signifikant erhöht. 10 der 24 Patienten (41,7%) exprimierten simultan HLA-DR2 und -MT3, in der Kontrollgruppe dagegen war diese Allelkombination nur bei 10,8% vertreten ($p<0,005$, $X^2=19,88$). Für Individuen mit dem Phänotypen HLA-DR2/MT3 ist das relative Risiko, an einer idiopathischen RPGN Typ II zu erkranken, auf 5,88 erhöht.

11 der HLA-DR2-positiven und 12 der HLA-MT3-positiven Patienten typisierten zusätzlich für BfF positiv. Umgekehrt wurde jedoch bei allen 17 Patienten, die den Properdinallotypen BfF exprimierten, wenigstens eines der beiden signifikant vermehrten Klasse II-Merkmale gesehen. 6 der 9 Patienten mit der Allelkombination HLA-DR2/MT3 trugen BfF. Insgesamt exprimierten also 6 der 24 Patienten alle drei signifikant vermehrten MHC-Allele HLA-DR2, -MT3 und BfF.

9 Patienten waren HLA-DR2-negativ, ebenfalls 9 HLA-MT3-negativ. Von 7 Patienten wurde BfF nicht exprimiert. 3 Patienten trugen weder HLA-DR2, noch HLA-MT3. Lediglich bei 2 Patienten wurde keine der drei signifikant vermehrten MHC-Spezifitäten gesehen.

Die Kombination der Allele HLA-DR2 und BfF war bei 11 Patienten, HLA-MT3 und BfF bei 12 vorhanden. Von allen 10 Patienten mit der Merkmalskonstellation HLA-MT1/MT3 wurde HLA-DR2 exprimiert, zusätzlich fand sich bei diesen Patienten als weiteres Klasse II-Allel HLA-DR4 oder -DR7 (Tabelle 3).

# 4. DISKUSSION

## 4.1. Zur Fragestellung

Die immungenetischen Untersuchungen bei 24 Patienten mit idiopathischer rapid progressiver Glomerulonephritis Typ II zeigen, daß die Erkrankung zu verschiedenen Produkten des menschlichen MHC assoziiert ist. Für Träger der Merkmale HLA-DR2 und -MT3 und des Properdinfaktorallels BfF bestehen signifikant erhöhte relative Risiken an dieser Immunkomplexnephritis zu erkranken. Die Existenz der kodierenden MHC-Gene prädisponiert offensichtlich zur Ausbildung der Erkrankung. Das vermehrte Vorkommen der genannten Allotypen im Patientengut ist ein Indiz für die bedeutende Rolle des MHC in der Pathogenese der idiopathischen RPGN Typ II.

Ebenfalls mit HLA-DR2 assoziiert sind die multiple Sklerose (Jersild et al., 1973) und das Goodpasture-Syndrom (Rees et al., 1978). Die exaktesten Kenntnisse der Pathogenese liegen beim Goodpasture-Syndrom vor. Verantwortlich für dieses Krankheitsbild, das mit einer RPGN Typ I (Antibasalmembranglomerulonephritis) und pulmonaler Hämorrhagie (nekrotisierende Alveolitis) einhergeht, sind Antikörper vom IgG-Typ, die sowohl an der glomerulären, als auch an der alveolären Basalmembran binden (Sarre et al., 1964; Wilson und Dixon, 1973). Bei der idiopathischen RPGN Typ II (Immunkomplexnephritis) ist nicht endgültig geklärt, ob die pathogenetisch bedeutsamen Immunkomplexe in der Zirkulation entstehen und wegen der Filterfunktion der Niere an der GBM abgelagert werden oder ob sie als Reaktion auf implantierte Antigene in-situ gebildet werden (Couser und Salant, 1980; Fleuren et al., 1980; Vogt und Batsford, 1982). Die Assoziation der idiopathischen RPGN Typ II und des Goodpasture-Syndroms zum selben HLA-Merkmal DR2 könnte ein Hinweis darauf sein, daß ein gemeinsamer genetischer Defekt bei diesen Krankheiten vorliegt und sich durch abnorme Immunreaktionen an der Niere manifestiert.

Das RR für DR2-positive Individuen an einem Goodpasture-Syndrom zu erkranken ist mit 15,9 ungefähr viermal so hoch wie bei der idiopathischen RPGN Typ II mit 3,33. Das könnte ein Hinweis darauf sein, daß dem DR-Locus in der Pathogenese des Goodpasture-Syndroms eine größere Bedeutung zukommt als bei der idiopathischen RPGN Typ II.

Bei HLA-DR2-positiven Patienten mit multipler Sklerose wurde gezeigt, daß in enger Kopplung mit dem Allel DR2 ein krankmachendes Gen auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6 dominant vererbt wird. Dieses Krankheitsgen fand sich jedoch nicht bei HLA-DR2-negativen Patienten. Daraus wurde gefolgert, daß in der Pathogenese der multiplen Sklerose außer dem nachgewiesenen Krankheitsgen andere, nicht MHC-gekoppelte Gene oder zusätzlich exogene Faktoren eine Rolle spielen (Svejgaard et al., 1983).

Näher charakterisiert wurden MHC-gekoppelte Krankheitsgene bei den zu HLA-DR4 assoziierten Erkrankungen Diabetes mellitus (Bertrams et al., 1984), rheumatoide Arthritis (Christiansen et al., 1984) und Morbus Hodgkin (Hors et al., 1984). Beim Goodpasture-Syndrom und bei der idiopathischen RPGN Typ II wurden bislang keine Krankheitsgene beschrieben. Die assoziierten Allotypen HLA-DR2, -MT3 und BfF könnten jedoch bei der idiopathischen RPGN Typ II Marker für pathogenetisch bedeutsame Gene innerhalb des MHC sein.

Die Spezifität HLA-MT3, ein supertypisches Merkmal der Allele HLA-DR4, -DR7, -DRw9 und -DRw10 (Lepage et al., 1984), war in der Patientengruppe ähnlich stark vermehrt wie der Allotyp HLA-DR2 ($p<0,01$). Auch das RR von 3,74 für HLA-MT3-positive Individuen unterschied sich kaum von dem für HLA-DR2-positive Personen von 3,33. Das heißt, bei der idiopathischen RPGN Typ II besitzen die MT-Merkmale gleichermaßen statistische und folglich auch pathogenetische Relevanz wie die DR-Merkmale. Das ist umso bemerkenswerter als bislang nur wenige Krankheitsassoziationen zu MT-Merkmalen, gar keine zu HLA-MT3 in der Literatur zu finden sind. Zudem besteht bei der idiopathischen RPGN Typ II im Unterschied zu den meisten anderen HLA-assoziierten Krankheiten keine Assoziation zu einem einzelnen MHC-Allel oder einem bekannten Haplotypen, sondern eine Assoziation zu zwei voneinander unabhängigen Klasse II-Spezifitäten.

Obwohl die Frequenzen der von HLA-MT3 eingeschlossenen Allotypen HLA-DR4 und -DR7 in der Patientengruppe sichtlich erhöht waren, erreichten sie kein statistisch signifikantes Niveau. Eine ähnliche Konstellation war bei Patienten mit Goodpasture-Syndrom zutage getreten (Rees et al., 1978). In jenem Patientenkollektiv waren die Spezifitäten HLA-DR4 und -DR7 ebenfalls gehäuft, jedoch nicht signifikant vermehrt exprimiert worden. Da die MT-Merkmale damals nicht untersucht worden waren, kann nicht gesagt werden, ob auch beim Goodpasture-Syndrom eine Assoziation zu HLA-MT3 vorgelegen hatte. Auffällig ist allerdings, daß sowohl

bei der idiopathischen RPGN Typ II, als auch beim Goodpasture-Syndrom neben HLA-DR2 die Allotypen HLA-DR4 und -DR7 gehäuft vorkommen.

10 der 24 Patienten (41,7%) mit idiopathischer RPGN Typ II exprimierten HLA-DR2 und -MT3 in Kombination, bei den Kontrollen hingegen nur 10,4% ($p<0,005$). Für Individuen mit der Allelkombination HLA-DR2/MT3 berechtnete sich ein RR von 5,88. Das bedeutet, daß die gleichzeitige Expression der signifikant vermehrten Klasse II-Spezifitäten DR2 und MT3 stärker zur Entwicklung einer idiopathischen RPGN Typ II prädisponiert als die Expression nur eines der beiden Allele.

Da alle DR2-positiven Patienten auch das eng gekoppelte Merkmal MT1 und alle MT3-positiven zusätzlich einen der eingeschlossenen Allotypen DR4 oder DR7 exprimierten, kann der Schluß gezogen werden, daß bei den Patienten mit der Allelkombination HLA-DR2/MT3 die Allele DR2 und MT3 auf verschiedenen Chromosomen, bzw. Haplotypen lokalisiert sein müssen. Das signifikant erhöhte RR für heterozygote Personen mit der Allelkombination HLA-DR2/MT3 könnte ein Indiz dafür sein, daß bei der idiopathischen RPGN Typ II das Zusammenwirken zweier MHC-Gene auf unterschiedlichen Haplotypen von pathogenetischer Bedeutung ist. Beide Klasse II-Gene könnten für Polypeptidketten kodieren, deren Interaktion auf irgendeine Art und Weise für die Krankheit empfänglicher macht.

Dieses Phänomen der Genkomplementierung im HLA-System wurde bereits beim Diabetes mellitus Typ I (Svejgaard et al., 1980) und Herpes gestationis (Shornick et al., 1981) beschrieben, außerdem mehrfach bei der Maus gesehen (Stastny et al., 1983). Dabei scheinen sich unterschiedliche Gene auf verschiedenen Haplotypen funktionell zu ergänzen. Beim Diabetes mellitus Typ I und Herpes gestationis besteht für heterozygote Individuen mit der Allelkombination HLA-DR3/DR4 eine deutlich gesteigerte Empfänglichkeit zur Erkrankung.

Bislang sind nur wenige Assoziationen zwischen Properdinfaktorallelen und bestimmten Krankheiten beschrieben, erwähnt sei die Assoziation des Diabetes mellitus Typ I zu BfF1 (Bertrams et al., 1979; Raum et al., 1981). Bei der idiopathischen RPGN Typ II deutlich signifikant vermehrt war der Allotyp BfF. 7 der 24 Patienten typisierten homozygot für BfF (29,2%), in der Kontrollgruppe lediglich 3,0%. Für homozygote Träger von BfF berechnete sich ein RR von 13,8 ($p<10^{-5}$). Das Properdinallel BfF prädisponiert folglich stärker als die beiden anderen assoziierten Allotypen DR2 und MT3 zur Ausbildung einer idiopathischen RPGN Typ II.

Das signifikant vermindert exprimierte Properdinallel BfS schützt dagegen vor der Erkrankung. Für homozygote Individuen wurde das RR auf 0,28 kalkuliert ($p<0,005$).

Für heterozygote Personen mit BfSF, die ein RR von 1,45 besitzen, gleichen sich die gegensätzlichen Einflüsse der einzelnen Allele auf die Krankheitsempfänglichkeit weitgehend aus.

Durch bekannte Kopplungsungleichgewichte ist die starke Assoziation der idiopathischen RPGN Typ II zum Properdinallel BfF nicht erklärt, da solche zwischen den beiden Allelen DR2 und MT3 und BfF nicht bestehen (Lawler und Dewar, 1980; Serjeantson, 1984). BfF ist wie DR2 und MT3 am ehesten Teil eines noch zu definierenden Haplotypen, der bei der idiopathischen RPGN Typ II gehäuft vorkommt.

## 2. Zur Methodik

Nicht bei allen Patienten konnten zwei Allele pro Genlocus typisiert werden (Tabelle 3). Mögliche Erklärungen hierfür sind: 1. Der betreffende Patient ist homozygot am entsprechenden Genlocus. 2. Nur auf einem Chromosom 6 des Patienten existiert am betreffenden Genlocus ein Allel, das für ein Oberflächenmerkmal kodiert. Auf dem zweiten Chromosom 6 befindet sich am gleichen Genlocus hingegen ein freies Allel, welches keine Polypeptidkette produzieren kann. Bei diesen freien Allelen handelt es sich um echte Allele, bzw. Allelvarianten, die auch regelrecht vererbt werden. Sie sind für alle Klasse I- und II-Loci des MHC beschrieben, nicht jedoch für den Bf-Locus. 3. Ein vorhandenes Oberflächenantigen wurde fälschlicherweise nicht typisiert. Das kommt am häufigsten bei den HLA-C-Merkmalen vor, da sie schwächer als die anderen Klasse I-Merkmale auf der Zelloberfläche exprimiert werden.

Zur exakten Differenzierung dieser drei genannten Möglichkeiten wäre bei jedem Patienten eine Familientypisierung oder molekulargenetische Untersuchung notwendig. Da es sich bei der Bestimmung der MHC-Allele hier nicht um eine Genotypisierung, sondern um eine Phänotypisierung handelte, kann nicht gesagt werden, wie sich die gefundenen Allele auf Haplotypen verteilen.

Die Expression der HLA-Antigene bei immunologischen Erkrankungen kann je nach Krankheitsstadium variieren (Shoenfeld und Schwartz, 1984), außerdem beeinflußt wird sie durch immunsuppressive Medikamente (Häyry und Willebrand, 1986). Die Applikation von Glukocorticoiden zum Bei-

spiel bewirkt unter anderem eine Unterdrückung der Expression von Klasse II-Merkmalen, insbesondere von DR-Molekülen auf der Zelloberfläche. Deshalb ist es nicht verwunderlich, daß die Bestimmung der Klasse II-Allele bei Patienten unter immunsuppressiver Medikation mit Schwierigkeiten verbunden war. Da die Gabe von Glukocorticoiden zur Standardtherapie bei idiopathischer RPGN Typ II gehört, waren einige Patienten bereits behandelt, als die Blutentnahme zur HLA-Typisierung stattfand. Bei diesen ließen sich die Klasse II-Antigene nicht immer beim erstenmal bestimmen, sodaß eine zweite oder gar dritte HLA-Typisierung mit neuen Blutproben unternommen werden mußte. Die Mehrzahl der Patienten war jedoch bei Blutentnahme noch nicht therapiert und problemlos zu typisieren. Bei der Bestimmung der Properdinfaktorallele gab es diese Schwierigkeiten nicht.

Obwohl seit der 9. Arbeitstagung für Histokompatibilität 1984 eine neue Nomenklatur für die Klasse II-Gene des MHC eingeführt wurde (Conighi et al., 1984; Ferrará et al., 1984), werden in der Arbeit noch die alten Bezeichnungen MT1, MT2 und MT3 verwendet (Degos, 1980; Markert und Cresswell, 1982), da die hier benutzten Reagenzien als Anti-MT-Seren definiert waren und Anti-MB-Seren, die nun Anti-DQ-Seren entsprechen, noch nicht zur Verfügung gestanden hatten.

Neben den signifikant vermehrt exprimierten Allotypen HLA-DR2 und -MT3 traten in der Patientengruppe noch andere, bislang nicht erwähnte Spezifitäten leicht vermehrt auf, so HLA-A32, -B27, -Bw57, -Cw1 und -Cw7. Ihr gehäuftes Vorkommen ist erklärt durch bekannte Kopplungsungleichgewichte, die zwischen folgenden HLA-Merkmalen beschrieben sind: B27-Cw1 (Cross, 1980), Cw7-B7 (Sasazuki et al., 1980a), DR2-B7 (Lawler und Dewar, 1980), Bw57-DR7 (Grange et al., 1984), außerdem A32-B27-DR2 (Pollock und Rittner, 1980). Die relativ starke Vermehrung der Antigene HLA-Bw37, -Bw50 und Bw53 ist laut errechnetem $X^2$-Wert rein zufällig und beruht auf der absoluten Seltenheit dieser Allele in der Normalbevölkerung.

Einige Allotypen waren in der Patietengruppe unterrepräsentiert, ohne jedoch signifikant von der Normalverteilung abzuweichen, so HLA-A28, -B8, -B14, -Cw5 und -DR3.

### 3.3. Hypothesen zu HLA und Krankheit

HLA-Moleküle können als Rezeptoren fungieren und das Binden pathogener Agenzien (Chemikalien, Bakterien, Viren) an der Zelloberfläche ermöglichen. Eine dadurch bewirkte Alteration der Zelle kann zur Lyse oder genetischen Transformation derselben führen, je nach Potenz des Agens. Daneben kann es durch Interferenz des pathogenen Agens mit einem HLA-Molekül zur Veränderung der antigenen Zelleigenschaften kommen, wodurch die alterierte Zelle nicht mehr als körpereigen akzeptiert und von immunkompetenten Zellen eliminiert wird (Dausset, 1981). Die Assoziation einiger Erkrankungen zu bestimmten MHC-Allelen und exogenen Faktoren führte zur Etablierung dieser Rezeptortheorie (Scholz und Albert, 1983; Svejgaard et al., 1983). Bei der idiopathischen RPGN Typ II sind exogene Einflüsse als auslösende Faktoren bislang nicht evident, jedoch nicht gänzlich ausgeschlossen. Außerdem besteht die Krankheitsassoziation nicht zu einem eizigen, sondern zu drei unterschiedlichen MHC-Merkmalen. Für die Rezeptorfunktion der HLA-Moleküle bei der idiopathischen RPGN Typ II gibt es keine näheren Hinweise.

Als weitere Erklärung von HLA-Assoziationen zu Krankheiten muß das Prinzip der molekularen Nachahmung erwähnt werden. Auf ein pathogenes Agens, das strukturelle Ähnlichkeit mit einem HLA-Molekül besitzt, kann das Immunsystem in zweierlei Weise reagieren. Entweder kommt es wegen dieser Ähnlichkeit nicht zu einer immunologischen Auseinandersetzung, das pathogene Agens wird nicht als fremd erkannt und kann ungestört wirken. Dieser Mechanismus wurde für Streptokokken M-Protein und bestimmte Salmonellenantigene nachgewiesen (Amos und Ward, 1979). Andererseits besteht die Möglichkeit, daß das pathogene Agens wegen diskreter Unterschiede zu einem HLA-Molekül doch als fremd erkannt wird. Die provozierte Immunantwort richtet sich jedoch dann wegen der strukturellen Ähnlichkeit nicht nur gegen das eingedrungene Agens, sondern auch gegen körpereigene, HLA-exprimierende Zellen, und bekommt somit autoaggressiven Charakter (Schwartz, 1982).

Wie bei anderen HLA-assoziierten Erkrankungen vermutet, könnten auch bei der idiopathischen RPGN Typ II bislang unbekannte Viren, Bakterienbestandteile oder Chemikalien solche zuvor genannten immunpathologischen Reaktionen induzieren, sofern eine empfängliche HLA-Konstellation beim befallenen Organismus vorliegt.

Die Rolle der Klasse III-Gene und ihrer kodierten Serumproteinasen C2, C4A/B und Bf im Rahmen des Komplementsystems ist weitgehend geklärt. Die Komplementfaktoren können ubiquitär im Organismus aktiviert werden, auf klassische Weise über Clq oder alternativ über Bf und C3 (Cooper, 1982). Liegt ein Defekt bei einem Klasse III-Gen vor, so daß die Produktion des entsprechenden Komplementfaktors qualitativ oder quantitativ gestört ist, führt das zur generellen Beeinflussung aller Vorgänge, an denen einer der Faktoren C2, C4A/B oder Bf beteiligt ist. Beim C2- und C4-Mangelsyndrom kommt es von Geburt an zu einer generellen Beeinflussung der Krankheitsanfälligkeit des betroffenen Individuums, nicht jedoch zur Krankheitsmanifestation an einem bestimmten Organ (Jersild et al., 1976). Die Assoziationen bestimmter Krankheiten zu Klasse III-Allelen sind daher am ehesten im Rahmen von Kopplungsungleichgewichten innerhalb des MHC zu sehen (Amos und Ward, 1979; Davis, 1983). Bei der idiopathischen RPGN Typ II könnte das Properdinallel BfF zu einem Satz von Krankheitsmarkern auf dem Chromosom 6 gehören. Das höchste RR für Träger dieses Allotypen könnte ein Hinweis dafür sein, daß ein krankmachendes Gen näher am Bf-Locus als am DR-Locus liegt.

Entscheidende Bedeutung bei der Auslösung HLA-assoziierter Krankheiten kommt nach neuesten Erkenntnissen Immunantwortgenen zu. Ihre Struktur und Lokalisation ist nicht vollständig geklärt, beim Menschen wurden sie jedoch in enger Kopplung zu Klasse II-Genen nachgewiesen (Marsh et al., 1982; Sasazuki et al., 1983). Auch Klasse II-Genen selbst wurden IR-Eigenschaften zugeschrieben (Schwartz, 1982). IR-Gene sind verantwortlich für das Zusammenwirken der immunkompetenten Zellen und die Modulation immunologischer Reaktionen. Sie beeinflussen z.B. die Höhe von Antikörpertitern, die Funktion von T-Helfer- und T-Suppressorzellen und die Aktivität von Monozyten/Makrophagen (Thorsby, 1983).

Bei der idiopathischen RPGN Typ II kommt bestimmten Monozyten-/Makrophagenpopulationen große Bedeutung zu, da sie maßgeblich an der Bildung der charakteristischen Halbmonde innerhalb der Bowmanschen Kapselräume beteiligt sind (Atkins et al., 1976; Müller et al., 1984). In der Frühphase der Immunantwort sind Monozyten/Makrophagen für die Prozessierung und Präsentation von Antigenen an T-Regulatorzellen verantwortlich (Benacerraf, 1981; Rosenthal, 1980). Sie synthetisieren zahlreiche sekretorische Produkte (Nathan et al., 1980). Auf ihrer Zelloberfläche tragen sie nicht nur Rezeptoren für C3 und Fc, sondern auch Histokompatibilitätsantigene, vornehmlich der Klasse II, die für ihre

Funktion innerhalb des Immunsystems unentbehrlich sind (Kaufmann et al., 1984). Die Fähigkeit zur Ausführung, bzw. Unterdrückung immunologischer Reaktionen ist bekanntermaßen mit bestimmten HLA-Merkmalen assoziiert (Svejgaard et al., 1983; Sasazuki et al., 1983). Auch bei der idiopahtischen RPGN Typ II könnten defekte IR-Gene, die sich in enger Nachbarschaft des DR- oder Bf-Locus befinden, zu pathologischen humoralen und zellulären Reaktionen am Glomerulus beisteuern.

Die drei zur idiopathischen RPGN Typ II assoziierten HLA-Merkmale DR2, MT3 und BfF könnten zu einem Satz von Krankheitsmarkern gehören, der zusätzliche, noch unbekannte Allele des MHC mit einschließt. Solch ein erweiterter Haplotyp könnte wegen der Unterdrückung von Crossingovers durch einen menschlichen T-ähnlichen Locus auf dem Chromosom 6 - in Analogie zur Maus (Bennett, 1975) - in einer bestimmten Population konserviert worden sein. Ein krankmachendes Gen würde dann konstant auf diesem Haplotypen über viele Generationen vererbt werden (Alper et al., 1982; Davis, 1983). Zur Etablierung solcher erweiterter Haplotypen sind Familienseggregationsanalysen oder molekulargenetische Untersuchungen bei Erkrankten notwendig (Bodmer, 1984; Dausset und Cohen, 1984). Die hier untersuchten MHC-Loci HLA-A, -B, -C, -DR/MT und Bf repräsentieren zwar einen kleinen, jedoch immunologisch bedeutsamen Abschnitt des menschlichen Erbmaterials. Da jedoch nur eine Phänotypisierung der Patienten durchgeführt wurde, konnten keine Haplotypen erstellt werden, sodaß unklar bleibt, welcher Bf-Allotyp (S oder F) bei den heterozygoten Patienten mit welchem Klasse II-Allel (DR2 oder MT3) zu einem Haplotypen gehört.

Auf den beiden HLA-DR2 und -MT3 repräsentierenden Molekülen könnte sich ein identisches Epitop befinden, das von einem T-Zellrezeptor erkannt wird (Shen und Winchester, 1986). Eine Aktivierung spezifischer T-Zellklone wäre dann sowohl durch HLA-DR2, als auch durch HLA-MT3, bzw. eines der eingeschlossenen Allele möglich (Marrack und Kappler, 1986). Die Rolle solch antigenspezifischer T-Zellen wurde bei verschiedenen Immunnephritiden der Maus untersucht (Neilson et al., 1986). Ein tubuläres Antigen der Ratte bewirkte unterschiedliche Reaktionen, wenn es genetisch verschiedenen Mäuseinzuchtstämmen eingespritzt wurde. Mäuse des einen Stammes erkrankten an einer interstitiellen Nephritis, die durch immunologische Phänomene imponierte, Mäuse eines anderen Stammes dagegen nicht, obwohl alle Tiere anti-tubuläre Antikörper produzierten. Nur die zytotoxischen T-Zellen der erkrankten Tiere waren

in der Lage, Zielzellen mit dem tubulären Antigenbesatz zu lysieren. Für die Ausbildung der Nephritis konnte eine genetische Prädisposition in Assoziation zu H-2-gekoppelten IR-Genen nachgewiesen werden (Neilson und Phillips, 1982). Daneben wurden exogene Substanzen und zusätzliche Umweltfaktoren für die Induktion der Krankheit verantwortlich gemacht. Auch bei der idiopathischen RPGN Typ II könnte das Zusammentreffen einer genetischen Konstellation mit exogenen Einflüssen von pathogenetischer Bedeutung sein.

Obwohl im untersuchten Patientengut die Allotypen HLA-DR2, -MT3 und BfF signifikant vermehrt waren, gab es zwei Patienten, die keines dieser drei Merkmale exprimierten. Auch bei anderen HLA-assoziierten Krankheiten besteht keine absolute Assoziation zu einer HLA-Spezifität, mit Ausnahme der Narkolepsie. Bie dieser Erkrankung des ZNS wurde vor kurzem eine absolute Assoziation zu HLA-DR2 beschrieben und ein MHC-gekoppelter cerebraler Enzymdefekt vermutet (Langdon et al., 1984). Für weitere Gemeinsamkeiten zwischen Narkolepsie und idiopathischer RPGN Typ II gibt es keinerlei Anhalt, die Assoziation zum selben HLA-Merkmal ist am ehesten zufälliger Natur.

Die Assoziation der idiopathischen RPGN Typ II zu drei verschiedenen MHC-Allelen, zwischen denen bislang keine Kopplungsungleichgewichte beschrieben sind, könnte ein Hinweis darauf sein, daß die Erkrankung zwar als Entität wohl definiert ist, ihr jedoch unterschiedliche ätiologische Faktoren zugrunde liegen.

Da die Assoziationen zu den einzelnen Allelen relativ schwach sind, ist es unwahrscheinlich, daß der HLA-Typisierung bei der idiopathischen RPGN Typ II differentialdiagnostische Relevanz zukommen wird, wie z.B. beim Morbus Bechterew.

Neben der idiopathischen RPGN Typ II sind weitere Glomerulonephritiden ebenfalls zu HLA-Merkmalen assoziiert. Von allen beschreibenden Autoren wurde die bedeutende Rolle des MHC oder eng mit ihm gekoppelter Gene bei der Auslösung und Manifestation dieser immunologischen Nierenerkrankungen hervorgehoben (Alfiler et al., 1980; Berger et al., 1975; Berthoux et al., 1978, 1984; Fauchet et al., 1980; Klouda et al., 1979; Mouzon-Cambon et al., 1981; Müller et al., 1981, 1985b; Noel et al., 1978; Noss et al., 1981; Nunez-Roldan et al., 1982; Papiha et al., 1987; Thomson et al., 1976; Trompeter et al., 1980).

Die idiopathische Form der perimembranösen Glomerulonephritis, in deren Pathogenese wie bei der idiopathischen RPGN Typ II Immunkomplexe eine bedeutende Rolle spielen, ist zu HLA-B8 und -DR3 assoziiert (Berthoux et al., 1978; Müller et al., 1982). Bei Patienten mit dem Haplotypen HLA-B8/DR3 wurde gezeigt, daß während der akuten Krankheitsphase die Plasma-Fc-IgG-Clearence deutlich vermindert war und in der Remissionsphase T-Helferzellen im peripheren Blut stark reduziert waren (Berthoux et al., 1984). Bei der Dermatitis herpetiformis wurde ebenfalls eine herabgesetzte Klärfunktion des RES in Assoziation zum Haplotypen HLA-B8/DR3 beschrieben (Lawley et al., 1981). Die Funktion der bei beiden Erkrankungen untersuchten Milzmakrophagen korrelierte positiv mit den signifikant vermehrt gefundenen HLA-Merkmalen. Die Autoren deuteten dieses Phänomen als verzögerte immunologische Antwort auf ein exogenes Antigen, als gestörte Makrophagenaktivität, bzw. insuffiziente Funktion des RES und Dysregulation der Lymphozytensubpopulationen, alles auf dem Boden einer genetischen Besonderheit innerhalb des HLA-Systems jener Patienten.

Ob auch bei der idiopathischen RPGN Typ II eine fehlerhafte Funktion des glomerulären Endothels oder Mesangiums in Assoziation zu HLA-DR2, -MT3 und BfF besteht, bedarf weiterer Abklärung. Auffallend ist, daß der Allotyp HLA-DR3, der häufig mit Immunkomplexerkrankungen assoziiert ist (Berthoux et al., 1978, 1984; Lawley et al., 1981; Reinertsen et al., 1978; Shen und Winchester, 1986; Svejgaard et al., 1983), bei der idiopathischen RPGN Typ II nicht gehäuft, sondern im Gegenteil vermindert exprimiert wurde.

## 4.4. Schlußfolgerungen

Aufgrund der beschriebenen HLA-Assoziation besteht für die idiopathische RPGN Typ II eine genetische Prädisposition. Träger der Merkmale HLA-DR2, -MT3 und BfF besitzen eine erhöhte Krankheitsempfänglichkeit, das RR für BfS-positive Individuen ist hingegen erniedrigt. Zur möglichen Erklärung dieser HLA-Assoziation wurden verschiedene Hypothesen diskutiert, so die Rezeptortheorie, das Prinzip der molekularen Nachahmung, die Genkomplementierung, die Bedeutung erweiterter Haplotypen und eines T-ähnlichen Locus, die Aufgabe von IR-Genen, der Einfluß des T-Zellrezeptors, die Rolle von Immunkomplexen und Monozyten/Makrophagen.

Als Fazit kann gesagt werden, daß die zur idiopathischen RPGN Typ II assoziierten HLA-Merkmale vermutlich nicht direkt für die Entstehung der Krankheit verantwortlich, sondern am ehesten Marker für krankmachende Gene sind, die sich in enger Nachbarschaft des DR- und Bf-Locus auf dem kurzen Arm des menschlichen Chromosoms 6 befinden. Die bedeutende Rolle des MHC in der Pathogenese dieser primären Immunkomplexnephritis wird durch die vorliegenden Ergebnisse unterstrichen. Vermutlich sind jedoch neben den erwähnten immunpathologischen Vorgängen weitere Einflüsse nicht immunologischer Art für die Auslösung und Manifestation der Erkrankung verantwortlich (Baldwin, 1982).

Unklar bleibt zunächst, ob die Prognose der idiopathischen RPGN Typ II und das Ansprechen der Krankheit auf therapeutische Maßnahmen ebenfalls mit einer bestimmten HLA-Konstellation der Patienten verbunden ist. Dazu müssen Verlaufsbeobachtungen, möglichst an größeren Kollektiven, abgewartet werden. Bei der multiplen Sklerose wurde gezeigt, daß HLA-DR2-positive Patienten eine weit schlechtere Prognose besitzen als HLA-DR2-negative (Platz et al., 1978).

Die Genotypisierung und molekulargenetische Untersuchungen erkrankter Personen könnten zur Etablierung eines assoziierten MHC-Haplotypen und zur Erfassung eines involvierten Krankheitsgens auf dem Chromosom 6 führen und dadurch weiteres Licht in die Immungenetik und Pathogenese der idiopathischen rapid progressiven Glomerulonephritis Typ II bringen.

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

Bei der idiopathischen RPGN Typ II handelt es sich um die primäre Form einer Immunkomplexnephritis. Diese relativ seltene Erkrankung besitzt eine äußerst schlechte Prognose und führt unbehandelt in der Regel innerhalb kurzer Zeit zur terminalen Niereninsuffizienz. In ihrer Pathogenese bedeutsam sind vermutlich abnorme immunologische Reaktionen am Glomerulus, die zur Zerstörung der Nephren und zum Funktionsverlust der Niere führen. Bei der Regulation immunologischer Vorgänge spielen MHC-Gene auf dem kurzen Arm des menschlichen Chromosoms 6 eine wichtige Rolle. Sie kodieren für Zellmembranantigene und Komplementfaktoren.

In der Arbeit untersucht werden sollte der Einfluß des MHC in der Pathogenese der idiopathischen RPGN Typ II. Dazu wurden bei 24 süddeutschen Patienten mit histologisch gesicherter Diagnose die Produkte verschiedener MHC-Gene bestimmt. Die Typisierung der Klasse I-Antigene HLA-A, -B und -C und der Klasse II-Antigene HLA-DR und -MT erfolgte mit Hilfe des zytotoxischen Tests auf Patientenlymphozyten, die zur Klasse III gerechneten Allele des Properdinfaktors Bf wurden elektrophoretisch im Serum der Patienten dargestellt. Die Frequenzen aller in der Patientengruppe erfaßten HLA-Spezifitäten wurden mit denen bei entsprechenden Kontrollgruppen, die sich aus süddeutschen Normalpersonen zusammensetzten, verglichen. Unterschiede in der Häufigkeit der Phänotypen wurden mittels Chi-Quadrat-Test mit Yates-Korrektur auf ihre statistische Relevanz hin überprüft.

In der Patientengruppe signifikant vermehrt waren die Klasse II-Merkmale HLA-DR2 und -MT3, ebenso das Properdinfaktorallel BfF ($p$ jeweils $<0,01$). Für Träger dieser MHC-Allele wurden signifikant erhöhte relative Risiken kalkuliert, an einer idiopathischen RPGN Typ II zu erkranken. Das höchste RR mit 13,8 besitzen homozygote Individuen mit dem Properdinallel BfF ($p<0,00001$). Außerdem signifikant erhöht war die Anzahl der Patienten, die für HLA-DR2 und -MT3 in Kombination typisierten ($p<0,005$). Das Properdinallel BfS wurde in der Patientengruppe signifikant vermindert gesehen ($p<0,001$). BfS-positive Individuen scheinen mit einem RR von 0,28 vor der Erkrankung geschützt zu sein. Die Klasse I-Antigene waren normal verteilt. Insgesamt kann somit eine Assoziation der idiopathischen RPGN Typ II zu HLA-DR2, -MT3 und BfF beschrieben werden.

Aufgrund dieser HLA-Assoziation kann von einer genetischen Prädisposition der idiopathischen RPGN Typ II ausgegangen werden. Die assoziierten Allotypen sind jedoch sehr wahrscheinlich nicht direkt für die Entstehung der Erkrankung verantwortlich. Zur Erklärung dieser Untersuchungsergebnisse wurden verschiedene Hypothesen diskutiert, die Rezeptortheorie, das Prinzip der molekularen Nachahmung, die Genkomplementierung, die Bedeutung erweiterter Haplotypen und eines menschlichen T-ähnlichen Locus, die Aufgabe von Immunantwortgenen, die Funktion des T-Zellrezeptors, die Rolle von Immunkomplexen und immunkompetenter Zellen wie Makrophagen/Monozyten. Die Allotypen HLA-DR2, -MT3 und BfF sind am ehesten Marker für eng gekoppelte, bislang nicht näher charakterisierte Immunantwortgene, bzw. andere krankmachende Gene innerhalb des MHC. Weitere Aufschlüsse über Lokalisation und Art dieser vermuteten Krankheitsgene sind von Genotypisierungen und molekulargenetischen Analysen erkrankter Personen zu erwarten.

Beim Goodpasture-Syndrom, welches ebenfalls zu HLA-DR2 assoziiert ist, spielen anti-GBM-Antikörper eine pathogenetisch bedeutsame Rolle. Die morphologischen Veränderungen an der Niere entsprechen lichtmikroskopisch denen der idiopathischen RPGN Typ II. Die Assoziation zum gleichen MHC-Allel könnte auf einen gemeinsamen immungenetischen Defekt beider Krankheiten hindeuten. Bei der perimembranösen Glomerulonephritis, einer anderen Immunkomplexnephritis, wurde ein genetischer Defekt in Assoziation zu HLA-B8 und -DR3 beschrieben, der eine mangelhafte Elimination schädigender Immunkomplexe aus dem Glomerulus zur Folge hat. Auch bei der multiplen Sklerose besteht eine Assoziation zu HLA-DR2. In Kopplung mit HLA-DR2 wurde ein dominant vererbtes Krankheitsgen auf dem Chromosom 6 gefunden, außerdem besitzen bei dieser immunologischen Erkrankung des ZNS HLA-DR2-positive Patienten eine deutlich schlechtere Prognose als HLA-DR2-negative. Ob der Verlauf und das therapeutische Ansprechen der idiopathischen RPGN Typ II ebenfalls mit einer bestimmten HLA-Konstellation der Patienten verbunden ist, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

Insgesamt unterstreicht die Assoziation der idiopathischen RPGN Typ II zu den genannten MHC-Allotypen die bedeutende Rolle des HLA-Systems in der Pathogenese dieser Immunkomplexnephritis.

Tabelle 1: Komplette Liste aller serologisch definierten HLA-Spezifitäten

HLA

| A | B | C | DR | DQ |
|---|---|---|---|---|
| A1 | B5 | Cw1 | DR1 | DQw1 |
| A2 | B7 | Cw2 | DR2 | DQw2 |
| A3 | B8 | Cw3 | DR3 | DQw3 |
| A9 | B12 | Cw4 | DR4 | |
| A10 | B13 | Cw5 | DR5 | |
| A11 | B14 | Cw6 | DRw6 | |
| Aw19 | B15 | Cw7 | DR7 | |
| A23 | B16 | Cw8 | DRw8 | |
| A24 | B17 | | DRw9 | |
| A25 | B18 | | DRw10 | |
| A26 | B21 | | DRw11 | |
| A28 | Bw22 | | DRw12 | |
| A29 | B27 | | DRw13 | |
| A30 | B35 | | DRw14 | |
| A31 | B37 | | | |
| A32 | B38 | | | |
| Aw33 | B39 | | DRw52 | |
| Aw34 | B40 | | DRw53 | |
| Aw36 | Bw41 | | | |
| Aw43 | Bw42 | | | |
| Aw66 | B44 | | | |
| Aw68 | B45 | | | |
| Aw69 | Bw46 | | | |
| | Bw47 | | | |
| | Bw48 | | | |
| | B49 | | | |
| | Bw50 | | | |
| | B51 | | | |
| | Bw52 | | | |
| | Bw53 | | | |
| | Bw54 | | | |
| | Bw55 | | | |
| | Bw56 | | | |
| | Bw57 | | | |
| | Bw58 | | | |
| | Bw59 | | | |
| | Bw60 | | | |
| | Bw61 | | | |
| | Bw62 | | | |
| | Bw63 | | | |
| | Bw64 | | | |
| | Bw65 | | | |
| | Bw67 | | | |
| | Bw70 | | | |
| | Bw71 | | | |
| | Bw72 | | | |
| | Bw73 | | | |
| | Bw4 | | | |
| | Bw6 | | | |

(ALBERT et al., 1984)

Tabelle 2: Liste aller eindeutig charakterisierten Klasse III Spezifitäten

| C2 | Bf | C4A | C4B |
|---|---|---|---|
| C2 1 | Bf F | C4 2 | C4B 1 |
| C2 2 | Bf S | C4A 3 | C4B 2 |
| C2 V | Bf F1 | C4A 4 | C4B 3 |
| | Bf S0.7 | C4A 6 | C4B Q0 |
| | | C4A Q0 | |

(ALBERT et al., 1984)

Tabelle 3: HLA-ABC, -DR, -MT und Properdinfaktor Bf Phänotypen bei 24 Patienten mit idiopathischer rapid progressiver Glomerulonephritis Typ II

| Patient | HLA | | | | | Bf |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | A | B | Cw | DR | MT | |
| 1 | 2,3 | w44,w35 | 4,- | w6,7 | 2,3 | FS |
| 2 | 3,w24 | 18,w60 | 3,- | 2,w6 | 1,2 | FS |
| 3 | 1,2 | 7,w62 | 1,4 | 2,4 | 1,3 | F |
| 4 | 2,w32 | w37,w50 | 6,- | 5,7 | 2,3 | F |
| 5 | 11,w32 | w35,w60 | 3,4 | 2,4 | 1,3 | FS |
| 6 | 28,- | 27,w60 | 1,3 | 4,5 | 2,3 | FS |
| 7 | 2,- | w60,- | 3,- | 1,2 | 1,- | FS |
| 8 | 1,w32 | 7,w44 | 2,3 | 2,7 | 1,3 | FS |
| 9 | 2,3 | 7,w52 | -,- | 2,7 | 1,3 | F |
| 10 | 1,2 | 8,18 | 7,- | 3,7 | 2,3 | F |
| 11 | 2,26 | 7,w38 | 7,8 | 2,- | 1,- | S |
| 12 | 2,w32 | 27,- | 2,- | 2,w8 | 1,2 | F |
| 13 | 2,w24 | 27,w35 | 1,4 | 5,- | 2,- | S |
| 14 | 11,w23 | 7,w57 | 2,7 | 2,7 | 1,3 | F |
| 15 | 3,- | 7,- | 1,- | 2,- | 1,- | FS |
| 16 | 2,- | 7,w62 | 3,7 | 2,4 | 1,3 | S |
| 17 | 11,w24 | 18,w51 | -,- | 2,4 | 1,3 | FS |
| 18 | 2,- | 7,w62 | -,- | 2,4 | 1,3 | S |
| 19 | 2,- | 14,w51 | -,- | 5,w6 | 2,- | S |
| 20 | 2,11 | w35,w57 | 4,7 | 1,5 | 1,2 | S |
| 21 | 1,3 | 8,w35 | 4,7 | 3,4 | 2,3 | FS |
| 22 | 1,2 | w53,w57 | -,- | 2,7 | 1,3 | S |
| 23 | 2,3 | 13,w35 | 6,- | 2,4 | 1,3 | FS |
| 24 | 2,w32 | w35,w63 | 4,- | 1,w6 | 1,2 | F |

Tabelle 4: Verteilung der HLA-A Antigene

| HLA Merkmal | Patienten (N = 24) | | Kontrollen (N = 143) | | relatives Risiko | $X^2$ | P |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A1 | 5 | 20,8% | 45 | 31,5% | 0,57 | 0,659 | n.s. |
| A2 | 16 | 66,7% | 72 | 50,3% | 1,97 | 1,589 | n.s. |
| A3 | 6 | 25,0% | 39 | 27,3% | 0,89 | 0,140 | n.s. |
| A11 | 4 | 16,7% | 11 | 7,7% | 2,40 | 1,076 | n.s. |
| A23 | 1 | 4,2% | 5 | 3,5% | 1,20 | 0,184 | n.s. |
| A24 | 3 | 12,5% | 17 | 11,9% | 1,06 | 0,065 | n.s. |
| A26 | 1 | 4,2% | 13 | 19,1% | 0,43 | 0,166 | n.s. |
| A28 | 1 | 4,2% | 20 | 14,0% | 0,27 | 1,020 | n.s. |
| A32 | 5 | 20,8% | 13 | 9,1% | 2.63 | 1,852 | n.s. |

$X^2$ = Signifikanz

P = Irrtumswahrscheinlichkeit

Tabelle 5: Verteilung der HLA-B Antigene

| HLA Merkmal | Patienten (N = 24) | | Kontrollen (N = 142) | | relatives Risiko | $\chi^2$ | P |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| B7 | 8 | 33,3% | 40 | 28,2% | 1,47 | 0,074 | n.s. |
| B8 | 2 | 8,3% | 24 | 23,9% | 0,45 | 0,585 | n.s. |
| B13 | 1 | 4,2% | 9 | 6,3% | 0,65 | 0,003 | n.s. |
| B14 | 1 | 4,2% | 15 | 10,6% | 0,39 | 0,370 | n.s. |
| B18 | 3 | 12,5% | 17 | 12,0% | 1,05 | 0,070 | n.s. |
| B27 | 3 | 12,5% | 7 | 4,9% | 2,78 | 0,956 | n.s. |
| B35 | 7 | 29,2% | 22 | 15,5% | 2,27 | 1,798 | n.s. |
| B37 | 1 | 4,2% | 1 | 0,7% | 6,13 | 0,182 | n.s. |
| B44 | 2 | 8,3% | 25 | 24,6% | 0,46 | 0,705 | n.s. |
| Bw50 | 2 | 8,3% | 4 | 2,8% | 3,14 | 0,560 | n.s. |
| B51 | 2 | 8,3% | 23 | 16,2% | 0,47 | 0,473 | n.s. |
| Bw53 | 1 | 4,2% | 1 | 0,7% | 6,13 | 0,182 | n.s. |
| Bw57 | 3 | 12,5% | 4 | 2,8% | 4,93 | 2,670 | n.s. |
| Bw60 | 4 | 16,7% | 9 | 6,3% | 2,96 | 1,772 | n.s. |
| Bw62 | 3 | 12,5% | 11 | 7,7% | 1,70 | 0,143 | n.s. |
| Bw63 | 1 | 4,2% | 5 | 3,5% | 1,78 | 0,189 | n.s. |

$\chi^2$ = Signifikanz

P = Irrtumswahrscheinlichkeit

Tabelle 6: Verteilung der HLA-C Antigene

| HLA Merkmal | Patienten (N = 24) | | Kontrollen (N = 140) | | relatives Risiko | $X^2$ | P |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Cw1 | 4 | 16,7% | 9 | 6,4% | 2,91 | 1,707 | n.s. |
| Cw2 | 3 | 12,5% | 15 | 10,7% | 1,19 | 0,009 | n.s. |
| Cw3 | 6 | 25,0% | 27 | 19,3% | 1,40 | 0,137 | n.s. |
| Cw4 | 7 | 29,2% | 32 | 22,9% | 1,39 | 0,170 | n.s. |
| Cw5 | - | 0,0% | 15 | 10,7% | - | 1,688 | n.s. |
| Cw6 | 2 | 8,3% | 18 | 12,9% | 0,62 | 0,083 | n.s. |
| Cw7 | 6 | 25,0% | 14 | 10,0% | 3,00 | 3,018 | n.s. |
| Cw8 | 1 | 4,2% | 24 | 17,1% | 0,21 | 1,760 | n.s. |

$X^2$ = Signifikanz

P = Irrtumswahrscheinlichkeit

Tabelle 7: Verteilung der HLA-DR Antigene

| HLA Merkmal | Patienten (N = 24) | | Kontrollen (N = 129) | | relatives Risiko | $\chi^2$ | P |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| DR1 | 3 | 12,5% | 26 | 20,2% | 0,57 | 0,354 | n.s. |
| DR2 | 15 | 62,5% | 43 | 33,3% | 3,33 | 6,127 | <0,01 |
| DR3 | 2 | 8,3% | 24 | 18,6% | 0,40 | 0,873 | n.s. |
| DR4 | 8 | 33,3% | 27 | 20,9% | 1,88 | 1,131 | n.s. |
| DR5 | 5 | 20,8% | 38 | 29,5% | 0,63 | 0,380 | n.s. |
| DRw6 | 4 | 16,7% | 28 | 21,7% | 0,72 | 0,081 | n.s. |
| DR7 | 7 | 29,2% | 26 | 20,2% | 1,63 | 0,512 | n.s. |
| DRw8 | 1 | 4,2% | 9 | 7,0% | 0,58 | 0,004 | n.s. |

$\chi^2$ = Signifikanz

P = Irrtumswahrscheinlichkeit

Tabelle 8: Verteilung der HLA-MT Merkmale

| HLA Merkmal | Patienten (N = 24) | Kontrollen (N = 120) | relatives Risiko | $X^2$ | P |
|---|---|---|---|---|---|
| MT1 | 17 70,8% | 86 71,7% | 0,96 | 0,027 | n.s. |
| MT2 | 11 45,8% | 77 64,2% | 0,56 | 1,153 | n.s. |
| MT3 | 15 62,5% | 37 30,8% | 3,74 | 7,374 | <0,01 |

$X^2$ = Signifikanz

P = Irrtumswahrscheinlichkeit

Tabelle 9: Verteilung der Bf-Phänotypen

| Bf-Phänotyp | Patienten (N = 24) | | Kontrollen* (N = 656) | | relatives Risiko | $X^2$ | P |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| SS | 7 | 29,2% | 391 | 59,6% | 0,28 | 7,627 | <0,005 |
| FS | 10 | 41,7% | 216 | 32,9% | 1,45 | 0,452 | n.s. |
| FF | 7 | 29,2% | 19 | 3,0% | 13,80 | 36,601 | <0,000 01 |

$X^2$ = Signifikanz

P = Irrtumswahrscheinlichkeit

* die Kontrollgruppe enhält auch die seltenen Bf-Phänotypen SSO,7(N = 15), FSO,7(N = 2), SF1(N = 8) und FF1(N = 5), deren Prozentzahlen hier nicht angegeben sind (GÖHLER, 1979)

Legende:

| | |
|---|---|
| GBM | glomeruläre Basalmembran |
| HLA | human leukocyte antigen |
| IK | Immunkomplexe |
| IR | immune response |
| MG | Molekulargewicht |
| MHC | major histocompatibility complex |
| MLC | mixed leukocyte culture |
| PLT | primed LD typing (LD = lymphocyte defined) |
| RPGN | rapid progressive Glomerulonephritis |
| RR | relatives Risiko |
| w | workshop |
| n.s. | nicht signifikant |

## 7. LITERATURVERZEICHNIS

Albert, E.D., Baur, M.P., Mayr, W.R. (1984)
Nomenclature for factors of the HLA system 1984, 4-8
in: Albert, E.D., Baur, M.P., Mayr, W.R.: Histocompatibility Testing 1984; Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo

Alfiler, C.A., Roy, L.P., Doran, T., Sheldon, A., Bashir, H. (1980)
HLA-DRw7 and steroid-responsive nephrotic syndrome of childhood
Clin. Nephrol. 14, 71-74

Alper, C.A., Johnson, A.M. (1969)
Immunofixation electrophoresis: a technique for the study of protein polymorphism
Vox Sang. 17, 445-452

Alper, C.A., Boenisch, T., Watson, L. (1972)
Genetic polymorphism in human glycin-rich-ß-glycoprotein
J. Exp. Med. 135, 68-80

Alper, C.A., Awdeh, Z.L., Raum, D.D., Yunis, E.J. (1982)
Extended major histocompatibility complex haplotypes in man: role of alleles analogous to murine t-mutants
Clin. Immunol. Immunopathol. 24, 276-285

Amos, D.B., Ward, F.E. (1979)
Theoretical consideration in the association between HLA and disease, 269-279
in: Ryder, L.P., Anderson, E., Svejgaard, A.: HLA and disease registry; Munksgaard, Kopenhagen

Atkins, R.C., Holdsworth, S.R., Glasgow, E.F., Matthews, F.E. (1976)
The macrophage in human rapidly progressive glomerulonephritis
Lancet I, 830-832

Atkins, R.C., Holdsworth, S.R., Hancock, W.W., Thomson, N.M., Glasgow, E.F. (1982)
Cellular immune mechanisms in human glomerulonephritis: the role of mononuclear leukocytes
Springer Semin. Immunopathol. 5, 269-295

Awdeh, Z.L., Raum, D., Yunis, E.J. (1983)
Extended HLA-complement allele haplotypes: evidence for T/t-like complex in man
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80, 1-8

Bacani, R.A., Velasquez, F., Kanter, A., Pirani, C.E., Pollak, V.E. (1968)
Rapidly progressive (nonstreptococcal) glomerulonephritis
Ann. Intern. Med. 69, 463-485

Bach, F.H., Voynow, N.K. (1966)
One way stimulation in mixed leukocyte cultures
Science 153, 545-547

Bach, F.H., Van Rood, J.J. (1976)
The major histocompatibility complex - genetics and biology
N. Engl. J. Med. 295, 806-813

Baldwin, D.S. (1982)
Chronic glomerulonephritis: nonimmunologic mechanisms of progressive glomerular damage
Kidney Int. 21, 109-120

Barnstable, C.J., Jones, E.A., Crumpton, M.J. (1978)
Isolation, structure and genetics of HLA-A, -B, -C and -DRw(Ia) antigens
Br. Med. Bull. 34, 241-246

Beckmann, I. (1984)
Monoclonal antibodies to HLA-DR antigens
Immunol. today 5, 29-32

Beirne, G.J., Brennan, J.T. (1973)
Glomerulonephritis associated with hydrocarbon solvents
Wiscon. Med. J. 72, 112-113

Benacerraf, B. (1981)
Role of MHC gene products in immune regulation
Science 212, 1229-1238

Bennett, D. (1975)
The T-locus of the mouse
Cell 6, 441-454

Berger, J., Yaneva, H., Nabarra, B., Barbanel, C. (1975)
Recurrence of mesangial deposition of IgA after renal transplantation
Kidney Int. 7, 232-241

Berthoux, F.C., Gagne, A., Sabatier, J.C., Ducret, F., Le Petit, J.C., Marcellin, M., Mercier, B., Brizard, C.P. (1978)
HLA-Bw35 and mesangial IgA glomerulonephritis
N. Engl. J. Med. 298, 1034-1035

Berthoux, F.C., Laurent, B., Le Petit, J.C., Genin, C., Broutin, F., Hassan, A.A., Champailler, A. (1984)
Immunogenetics and immunopathology of human primary membranous glomerulonephritis: HLA-A, B, DR antigens; functional activity of splenic macrophage Fc-receptors and peripheral blood T-lymphocyte subpopulations
Clin. Nephrol. 22, 15-20

Bertrams, J., Baur, M.P. (1984)
Insulin-dependent diabetes mellitus, 348
in: Albert, E.D., Baur, M.P., Mayr, W.R.: Histocompatibility Testing 1984; Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo

Bhan, A.K., Schneeberger, E.E., Collins, A.B., McCluskey, R.T. (1978)
Evidence for a pathogenic role of a cell-mediated immune mechanism in experimental glomerulonephritis
J. Exp. Med. 148, 246-260

Bland, C., Joysey, V.C. (1980)
Technique of separation, storage and DR test of B lymphocytes, 280-282
in: Terasaki, P.I.: Histocompatibility Testing 1980;
UCLA Tissue Typing Laboratory, Los Angeles

Bodmer, W.F., Bodmer, J.G. (1978)
Evolution and function of the HLA-system
Br. Med. Bull. 34, 309-316

Bodmer, W.F. (1981)
HLA structure and function: a contemptorary view
Tissue Antigens 17, 9-20

Bodmer, W.F., (1984)
The HLA system
in: Albert, E.D., Baur, M.P., Mayr, W.R.: Histocompatibility Testing 1984;
Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo

Bohle, A., Gärtner, H.V., Laberke, H.G., Krück, F. (1984)
Die Niere, 196-218
Schattauer, Stuttgart, New York

Bolton, W.K., Couser, W.G. (1979)
Intravenous pulse methylprednisolone therapy of acute crescentic rapidly progressive glomerulonephritis
Am. J. Med. 66, 495-502

Bøyum, A. (1968)
Separation of lymphocytes from blood and bone marrow
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 21 (Suppl. 97), 1-8

Brewerton, D.A., Caffrey, M., Hart, F.D., James, D.C.O., Nicholis, A., Sturrock, R.D. (1973)
Ankylosing spondylitis and HLA-B27
Lancet I, 904-907

Cameron, J.S. (1979)
The natural history of glomerulonephritis, 1-25
in: Kincaid-Smith, P., D'Apice, F, Atkins, R.C.: Progress in glomerulonephritis;
Wiley, New York

Cameron, J.S. (1982)
The pathogenesis of glomerulonaphritis: problems and recent understanding
La Ricerca Clin. Lab. 12, 539-564

Cameron, J.S. (1984)
Treatment of glomerulonephritis based on knowledge of its pathogenesis, 1445-1463
in: Robinson, R.R., Dennis, V.W., Ferris, T.F., Glassock, R.J., Kokko, J.P., Tisher, C.C.: Nephrology;
Springer, New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo

Carroll, M.C., Campbell, R.D., Bentley, D.R., Porter, R.R. (1984)
A molecular map of the human major histocompatibility complex class III region linking complement genes C4, C2 and factor B
Nature 307, 237-240

Ceppellini, R.T., Van Rood, J.J. (1974)
The HL-A system
Semin. Hematol. 11, 233-251

Christiansen, F.T., Kelly, H., Dawkins, R.L. (1984)
Rheumatoid arthritis, 378-383
in: Albert, E.D., Baur, M.P., Mayr, W.R.: Histocompatibility Testing 1984; Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo

Churg, J., Morita, T., Suzuki, Y. (1973)
Glomerulonephritis with fibrin and crescent formation, 677-694
in: Kincaid-Smith, P., Mathew, T.H., Becker, E.L.: Glomerulonephritis: morphology, natural history, and treatment;
Wiley, New York

Conighi, C., Mattiuz, P.L., Schreuder, G.M.T. (1984)
HLA-DRw52, 202-203
in: Albert, E.D., Baur, M.P., Mayr, W.R.: Histocompatibility Testing 1984; Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo

Cooper, N.R. (1982)
The complement system, 124-135
in: Stites, D.P., Stobo, J.D., Fudenberg, H.H., Wells, J.V.: Basic and clinical immunology;
Lange, Los Altos

Couser, W.G., Salant, D.J. (1980)
In-situ complex formation and glomerular injury
Kidney Int. 17, 1-13

Couser, W.G. (1985)
Mechanisms of glomerular injury in immune complex disease
Kidney Int. 28, 569-583

Danilovs, J., Ayoub, G., Terasaki, P.I. (1980)
B-lymphocyte isolation by thrombin-nylon wool, 287-288
in: Terasaki, P.I.: Histocompatibility Testing 1980;
UCLA Tissue Typing Laboratoriy, Los Angeles

Dausset, J. (1954)
Leuco-agglutinins and blood transfusion
Vox Sang. 6, 190-198

Dausset, J. (1958)
Iso-leuko-anticorps
Acta Haematol. 20, 156-166

Dausset, J. (1981)
The major histocompatibility complex in man: Past, present and future concepts
Science 213, 1469-1474

Dausset, J., Cohen, D. (1984)
HLA at the gene level, 22-28
in: Albert, E.D., Baur, M.P., Mayr, W.R.: Histocompatibility Testing 1984;
Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo

Davis, A.E. (1983)
The efficiency of complement activation in MHC linked diseases
Immunol. today 4, 250-252

Debre, P., Kapp, J.A., Dorf, M.E. (1975)
Genetic control of spedific immune suppression
J. Exp. Med. 142, 1147-1154

Degos, L. (1980)
Supertypic HLA-DR specificities, 570-571
in: Terasaki, P.I.: Histocompatibility Testing 1980;
UCLA Tissue Typing Laboratory, Los Angeles

Dick, H.M. (1978)
HLA and disease. Introductory review.
Br. Med. Bull. 34, 271-274

Dick, H.M. (1982)
HLA-DR: more than three loci
Immunol. today 3, 199-203

Doherty, P.C., Zinkernagel, R.M. (1975)
H-2 compatibility is requiredfor T-cell-mediated lysis of target cells
infected with lymphocytic choriomeningitis virus
J. Exp. Med. 141, 502-507

Dupont, B., Hansen, J.A., Yunis, E.J. (1973)
Human mixed-lymphocyte culture reaction: genetics, specifity, and biological implications
Adv. Immunol. 23, 107-119

Duquesnoy, R.J., Marrari, M., Annen, K.B. (1979)
Identification of an HLA-DR-associated system of B-cell alloantigens
Transplant. Proc. 11, 1757-1760

Ellis, A. (1942)
Natural history of Bright's disease: clinical, histological and experimental observations
Lancet I, 1-7

Engelfriet, C.P., Britten, A. (1965)
The cytotoxic test for leukocyte antibodies: a simple and reliable technique
Vox Sang. 10, 660-674

Fauchet, R., Le Pogamp, P., Genetet, B., Chevet, D., Gueguen, M., Simon, P., Ramee, M.P., Cartier, F. (1980)
HLA-DR4 antigen and IgA nephropathy
Tissue Antigens 16, 411-412

Ferrara, G.B., Park, M.S., Tanigaki, N., Terasaki, P.I. (1984)
HLA-DQw1, 205-207
in: Albert, E.D., Baur, M.P., Mayr, W.R.: Histocompatibility Testing 1984;
Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo

Fleuren, G., Grond, J., Hoedemaker, P.J. (1980)
In-situ formation of subepithelial glomerular immune complexes in passive serum sickness
Kidney Int. 17, 631-637

Francke, U., Pellegrino, M.A. (1977)
Assignment of the major histocompatibility complex to a region of the short arm of human chromosome 6
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 1147-1151

Gabbert, H., Thoenes, W. (1977)
Formation of basement membrane in extracapillary proliferates in rapidly progressive glomerulonephritis
Virchows Archiv (Cell Pathol.) 25, 265-269

Gärtner, H.V., Wehner, H., Bohle, A. (1978)
The immunohistological findings in various forms of glomerulonephritis: a comparative investigation based on 335 renal biopsies
Path. Res. Pract. 162, 198-225

Glassock, R.J. (1978)
A clinical and immunopathological dissection of rapidly progressive glomerulonephritis
Nephron 22, 253-264

Glassock, R.J., Cohen, A.H., Bennett, C.M., Martinez-Maldonado, M. (1981)
Primary glomerular diseases, 1351-1494
in: Brenner, B.M., Rector, F.C.: The Kidney;
3. Aufl., Saunders, Philadelphia

Glassy, M.C. (1982)
A chemical and biological profile of HLA-DR(Ia-like) antigens
TIBS, 286-288

Göhler, F. (1976)
Untersuchungen zum Bf-Polymorphismus und zur Kopplungsgruppe auf Chromosom 6
Med. Dissertation, Universität Tübingen

Goodfellow, P.N., Jones, E.A., Heyningen, V., Solomon, E., Bobrow, M., Miggiano, V., Bodmer, W.F. (1975)
The β2 microglobulin gene is on chromosome 15 and not in the HLA region
Nature 245, 267-269

Grange, D., Tongio, M.M., Hauptmann, G., Uring-Lambert, B., North, M.L., Mayer, S., Neugebauer, M., Baur, M.P. (1984)
Linkage between HLA-A, C, B, Bf and DR alleles: haplotype study of healthy families by factorial correspondence analysis, 326-341
in: Albert, E.D., Baur, M.P., Mayr, W.R.: Histocompatibility Testing 1984;
Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo

Grey, H.M., Kubo, R.T., Colon, S.M., Poulik, M.D., Cresswell, P., Springer, T., Turner, M., Strominger, J.L. (1973)
The small subunit of HLA antigens is β2-microglobulin
J. Exp. Med. 138, 1608-1612

Habib, R. (1970)
Classification anatomique des néphropathies glomérulaires
Pädiatr. Fortb. 28, 3-47

Häyry, P., Von Willebrand, E. (1976)
The influence of the pattern of inflammation and administration of steroids on class II MHC antigen expression in renal transplants
Transplantation 42, 358-363

Handwerger, B.S., Schwartz, R.H. (1974)
Separation of murine lymphoid cells using nylon wool columns
Transplantation 18, 544-548

Heber-Katz, E., Schwartz, R.H., Matis, L.A., Hannum, C., Fairwell, T., Appella, E., Hansburg, D. (1982)
Contribution of antigen-presenting cell major histocompatibility complex gene products to the specificity of antigen-induced T cell activation
J. Exp. Med. 155, 1086-1099

Hors, J., Bonaiti-Pellie, C., D'Agay, M.F., Rappaport, H., Andrieux, J.M., De Waal, L.P., De Lange, G.G., Feingold, N. (1984)
Morbus Hodgkin, 411-414
in: Albert, E.D., Baur, M.P., Mayr, W.R.: Histocompatibility Testing 1984; Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo

Jersild, C., Fog, T., Hansen, G.S., Thomson, M., Svejgaard, A., Dupont, B. (1973)
Histocompatibility determinants in multiple sclerosis, with special reference to clinical course
Lancet II, 1221-1225

Joysey, V.C., Wolf, E. (1978)
HLA-A, -B and -C antigens, their serology and cross reaction
Br. Med. Bull. 34, 217-222

Kaufmann, J.F., Auffray, C., Korman, A.J., Shackelford, D.A., Strominger, J. (1984)
The class II molecules of the human and murine major histocompatibility complex
Cell 36, 1-13

Killen, P.D., Melcion, C., Bonadio, J.F., Morel-Maroger, L., Striker, G.E. (1982)
Glomerular response to immunologic injury; studies on progression
Springer Semin. Immunopathol. 5, 297-320

Klein, J. (1975)
Biology of the mouse histocompatibility complex
Springer, Berlin, Heidelberg

Klein, J. (1979)
The major histocompatibility complex of the mouse
Science 203, 516-521

Klouda, P.T., Manøs, J., Acheson, E.J., Dyer, P.A., Goldby, F.S., Harris, R., Lawler, W., Mallick, N.P., Williams, G. (1979)
Strong association between idiopathic membranous nephropathy and HLA-DRw3
Lancet II, 770-771

Kömpf, J., Bissbort, S., Göhler, F., Schunter, F., Wernet, P. (1977)
Map of the linkage group GLO-Bf-HLA-PGM3 on human chromosome 6
Scand. J. Immunol. 6, 453-457

Kollegium Biomathematik NW (1976)
Biomathematik für Mediziner
Tests, 145-150
2. Aufl., Springer, Berlin, Heidelberg, New York

Lachmann, P.J., Hobart, M.J. (1978)
Complement genetics in relation to HLA
Br. Med. Bull. 34, 247-252

Langdon, N., Welsh, K.I., Van Dam, M., Vaugham, R.W., Parkes, D. (1984)
Genetic markers in narcolepsy
Lancet II, 1178-1180

Lawler, S.D., Dewar, P.J. (1980)
DR2, 511
in: Terasaki, P.I.: Histocompatibility Testing 1980;
UCLA Tissue Typing Laboratoriy, Los Angeles

Lawley, T.J., Hall, R.P., Fauci, A.A., Katz, S.I., Hamburger, M.I., Frank, M.M. (1981)
Defective Fc-receptor functions associated with the HLA-B8/DRw3 haplotype - studies in patients with dermatitis herpetiformis and normal subjects
N. Engl. J. Med. 304, 185-192

Lepage, V., Grumet, F.C., Busson, M., Colombani, J., Ness, D., Degos, L. (1984)
HLA-DRw53, 203-204
in: Albert, E.D., Baur, M.P., Mayr, W.R.: Histocompatibility Testing 1984;
Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo

Lerner, R.A., Glassock, R.J., Dixon, F.J. (1967)
The role of antiglomerular basement antibody in pathogenesis of human glomerulonephritis
J. Exp. Med. 126, 989-1004

Lockwood, C.M., Rees, A.J., Pearson, T.A., Evans, D.J., Peters, D.K., Wilson, C.B. (1976)
Immunosuppression and plasma-exchange in the treatment of Goodpasture's syndrome
Lancet I, 711-715

Lowry, R., Goguen, J., Carpenter, C.B., Strom, T.B., Garovoy, M.R. (1979)
Improved B cell typing for HLA-DR using nylon wool column enriched B lymphocyte preparations
Tissue Antigens 14, 325-330

Markert, M.L., Cresswell, P. (1982)
Human B-cell alloantigens: expression of MB and MT determinants
J. Immunol. 128, 2004-2008

Marrack, P., Kappler, J. (1986)
The T cell and its receptor
Scient. Amer. 254, 28-37

Marsh, D.G., Hsu, S.H., Roebber, M., Ehrlich-Kautzky, E., Freidhoff, L.R., Meyers. D.A., Pollard, M.K., Bias, W.B. (1982)
HLA-Dw2: a genetic marker for human immune response to short ragweed pollen allergen Ra5
J. Exp. Med. 155, 1439-1451

Masugi, M. (1934)
Über die experimentelle Glomerulonephritis durch das spezifische Antinierenserum. Ein Beitrag zur Pathogenese der diffusen Glomerulonephritis.
Beitr. Pathol. 92, 429-431

McDevitt, H.O., Benacerraf, B. (1969)
Genetic control of specific immune responses
Adv. Immunol. 11, 31-34

Meyrier, A., Simon, P., Mignon, F., Striker, L., Ramee, M.P. (1984)
Rapidly progressive (crescentic) glomerulonephritis and monoclonal gammopathies
Nephron 38, 156-162

Min, K.W., Györkey, P., Yium, J.J., Eknoyan, G. (1974)
The morphogenesis of glomerular crescents in rapidly progressive glomerulonephritis
Kidney Int. 5, 47-56

Mouzon-Cambon, A., Bouissou, F., Dutau, G., Barthe, P., Parba, M.T., Sevin, A., Ohayon, E. (1981)
HLA-DR7 in children with idiopathic nephrotic syndrome. Correlation with atopy.
Tissue Antigens 17, 518-524

Müller, G.A., Bockhorn, H., Lenhard, V., Fischer, E., Dreikorn, K., Fetta, R.F., Jansen, A., Halbfaß, H.J., Wilms, H., Dorn-Zacheritz, D., Faßbinder, W., Gumbel, B., Albert, F.W., Ewald, R.W., Goldmann, S., Franz, H.E., Wernet, P. (1980)
Höhere Erfolgsraten bei der Nierentransplantation durch die HLA-DR-Typisierung
Dtsch. Med. Wschr. 105, 401-405

Müller, G.A., Müller, C., Liebau, G., Kömpf, J., Ising, H., Wernet, P. (1981)
Strong association of idiopathic membranous nephropathy (IMN) with HLA-DR3 and MT2 without involvement of HLA-B18 and no association to BfF1
Tissue Antigens 17, 332-337

Müller, G.A., Müller, C., Bockhorn, H., Lenhard, V., Dreikorn, K., Fetta, R.F., Wilms, H., Faßbinder, W., Gumbel, B., Albert, F.W., Ewald, R.W., Goldmann, S., Sprenger-Klasen, I., Franz, H.E., Wernet, P. (1983)
HLA-DR-MT matching improves graft survival rate in cadaver kidney transplantation
Klin. Wochenschr. 61, 17-23

Müller, G.A., Müller, C., Risler, T. (1984)
Charakterisierung glomerulärer Halbmonde bei rapid progressiver Glomerulonephritis (RPGN) mit Hilfe monoklonaler Antikörper
Verh. Dtsch. G. inn. Med. 90, 1013-1016

Müller, G.A., Risler, T. (1985a)
Diagnostik und Therapie unterschiedlicher Formen der rapid progressiven Glomerulonephritis
Intern. Welt 8, 239-244

Müller, G.A., Gebhardt, M., Risler, T., Bohle, A. (1985b)
Assoziation der minimal proliferierenden interkappilären (MPI) Glomerulonephritis (GN) mit nephrotischem Syndrom zu HLA-DR7 und -MT3
Nieren- und Hochdruckkr. 9, 387

Munro, A., Waldmann, H. (1978)
The major histocompatibility system and the immune response
Br. Med. Bull. 34, 253-258

Nathan, C.F., Murray, H.W., Cohn, Z.A. (1980)
The macrophage as an effector cell
N. Engl. J. Med. 303, 622-626

Neale, T.J., Wilson, C.B. (1982)
Glomerular antigens in glomerulonephritis
Springer Semin. Immunopathol. 5, 221-249

Neilson, E.G., Phillips, S.M. (1982)
Murine interstitial nephritis
J. Exp. Med. 155, 1075-1085

Neilson, E.G., Clayman, M.D., Haverty, T., Kelly, C.J., Mann, R. (1986)
Experimental strategies for the study of cellular immunity in renal disease
Kidney Int. 30, 264-279

Noel, L.H., Descamps, B., Jungers, P., Bach, J.F., Busson, M., Suet, C., Hors, J., Dausset, J. (1978)
HLA antigen in three types of glomerulonephritis
Clin. Immunol. Immunopathol. 10, 19-23

Noss, G., Bachmann, H.J., Olbing, H. (1981)
Association of minimal change nephrotic syndrome (MCNS) with HLA-B8 and B13
Clin. Nephrol. 15, 172-174

Nounez-Roldan, A., Villechenous, E., Fernandez-Andrade, C., Martin-Govantes, J. (1982)
Increased HLA-DR7 and decreased DR2 in steroid-responsive nephrotic syndrome
N. Engl. J. Med. 306, 366-367

Oredugba, O., Mazumdar, D.C., Meyer, J.S., Lubowitz, H. (1980)
Pulse methylprednisolone therapy in idiopathic rapidly progressive glomerulonaphritis
Ann. Intern. Med. 139, 514-518

Opelz, G., Terasaki, P.I. (1977)
Significance of mixed leukocyte culture testing in kadaver-kidney transplantation
Transplantation 23, 375-380

Papiha, S., Pareek, S.K., Rodger, R.S.C., Morley, A.R., Wilkinson, R., Roberts, D.F., Kerr, D.N.S. (1987)
HLA-A, B, DR and Bf allotypes in patients with idiopathic membranous nephropathy (IMN)
Kidney Int. 31, 130-134

Ploegh, H.L., Orr, H.T., Strominger, J.L. (1981)
Major histocompatibility antigens: the human (HLA-A, -B, -C) and murine (H-2K, H-2D) class I molecules
Cell 24, 287-299

Pollock, C., Rittner, C. (1980)
Aw32, 331
in: Terasaki, P.I.: Histocompatibility Testing 1980;
UCLA Tissue Typing Laboratoriy, Los Angeles

Radka, S.F., Charron, D.J., Brodsky, F.M. (1986)
Review: Class II molecules of the major histocompatibility complex considered as differentiation markers
Human Immunol. 16, 390-400

Raum, D., Awdeh, Z., Alper, C.A. (1981)
Bf types and the mode of inheritance of insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM)
Immunogenetics 12, 59-74

Rees, A.J., Peters, D.K., Compston, D.A.S., Batchelor, J.R. (1978)
Strong association between HLA-DRw2 and antibody-mediated Goodpasture's syndrome
Lancet I, 966-968

Rees, A.J., Lockwood, C.M., Peters, D.K. (1979)
Nephritis due to antibodies to GBM, 347-366
in: Kincaid-Smith, P., D'Apice, A.J.F., Atkins, R.C.: Progress in glomerulonephritis;
Wiley, New York, Toronto

Reinertsen, J.L., Klippel, J.H., Johnson, A.H., Steinberg, A.D., Decker, J.L., Mann, D.L. (1978)
B-lymphocyte alloantigens associated with systemic lupus erythematosus
N. Engl. J. Med. 299, 515-518

Renner, E. (1982)
Rapid progressive Glomerulonephritis, 71-78
in: Losse, H., Renner, E.: Klinische Nephrologie;
Thieme, Stuttgart, New York

Rittner, C., Mauff, G. (1984)
C4 polymorphism, 318-324
in: Albert, E.D., Baur, M.P., Mayr, W.R.: Histocompatibility Testing 1984;
Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo

Rosen, S. (1975)
Crescentic glomerulonephritis: occurence, mechanisms and prognosis
Pathol. Annu. 10, 37-64

Rosenthal, A.S. (1980)
Regulation of the immune response - Role of the macrophage
N. Engl. J. Med. 303, 1153-1156

Sarre, H., Sieberth, H., Noltenius, H. (1964)
Das Goodpasture-Syndrom, Glomerulonephritis und Lungenbluten
Dtsch. Med. Wschr. 89, 2405-2410

Sarre, H., Kluthe, R., Jesdinsky, H.J., Baum, P., Buchborn, E., Dürr, F., Edel, H., Fritz, K.W., Heidland, A., Heintz, R., Jutzler, G.A., Körtge, P., Krecke, H.J., Lange, W., Nieth, H., Oberwittler, J., Oechslen, D., Portwich, P., Schirmeister, J., Schoeppe, W., Schütterle, G., Sieberth, H.G., Wethels, E. (1971)
Nephrotisches Syndrom des Erwachsenenalters
Dtsch. Med. Wschr. 6, 225-229

Sasazuki, T., Dausset, J., Tokunaga, K., Sato, H., Okochi, K., Naito, S. (1980a)
Cw7, 501-502
in: Terasaki, P.I.: Histocompatibility Testing 1984;
UCLA Tissue Typing Laboratory, Los Angeles

Sasazuki, T., Kaneoka, H., Nishimura, Y., Kaneoka, R., Hayama, M., Ohkuni, H. (1980b)
An HLA-linked immune suppression gene in man
J. Exp. Med. 152, 297s-313s

Sasazuki, T., Nishimura, Y., Muto, M., Ohta, N. (1983)
HLA-linked gene controlling immune response and disease susceptibility
Immunol. Rev. 70, 51-75

Scholz, S., Albert, E. (1983)
HLA and disease: Involvement of more than one HLA-linked determinant of disease susceptibility
Immunol. Rev. 70, 77-88

Schwartz, B.D. (1982)
The human major histocompatibility HLA complex, 52-64
in: Stites, D.P., Stobo, J.D., Fudenberg, H.H., Wells, J.V.: Basic and clinical immunology
4. Aufl., Lange, Los Altos

Serjeantson, S.W. (1984)
Properdin factor B, 317-318
in: Albert, E.D., Baur, M.P., Mayr, W.R.: Histocompatibility Testing 1984;
Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo

Shackelford, D.A., Kaufmann, J.F., Kormann, A.J., Strominger, J.L. (1982)
HLA-DR antigens: structure, separation of subpopulations, gene cloning and function
Immunol. Rev. 66, 133-187

Shaw, S., Kavathas, P., Pollack, M.S., Charmot, D., Mawas, C. (1981)
Family studies define a new histocompatibility locus, SB, between HLA-DR and GLO
Nature 293, 745-749

Shaw, S., Ziegler, A., DeMars, B. (1984)
Specificity of monoclonal antibodies directed against human and murine class II histocompatibility antigens as analysed by binding to HLA-deletion mutant cell lines
Hum. Immunol. 11, 77-97

Shearer, G.M., Schmitt-Verhulst, A.M. (1977)
Major histocompatibility complex restricted cell-mediated immunity
Advan. Immunol. 25, 55-91

Sheehy, M.J., Sondel, P.M., Bach, M.L., Wank, R., Bach, F.H. (1975)
HLA LD(lymphocyted defined) typing: a rapid assay with primed lymphocytes
Science 188, 1308-1310

Shen, H.H., Winchester, R.J. (1986)
Susceptibility genetics of systemic lupus erythematosus
Springer Semin. Immonopathol. 9, 143-159

Shoenfeld, Y., Schwartz, R.S. (1984)
Immunologic and genetic factors in autoimmune diseases
N. Engl. J. Med. 311, 1019-1029

Shornick, J.K., Stastny, P., Gillian, J.N. (1981)
High frequency of histocompatibility antigens HLA-DR3 and DR4 in herpes gestationes
J. Clin. Invest. 68, 553-555

Sonsino, E., Nabbara, B., Kazatchkine, M., Hinglais, N., Kreis, H. (1972)
Extracapillary proliferative glomerulonephritis. Socalled malignant glomerulonephritis.
Adv. Nephrol. 2, 121-124

Spargo, B.H., Ordonez, N.G., Ringu, J.C. (1977)
The differential diagnosis of crescentic glomerulonephritis: The pathology of specific lesions with prognostic implications
Hum. Pathol. 8, 187-204

Stastny, P., Ball, E.J., Dry, P.J., Nunez, G. (1983)
The human immune response region (HLA-D) and disease susceptibility
Immunol. Rev. 70, 113-153

Steinmetz, M., Hood, L. (1983)
Genes of the major histocompatibility complex in mouse and man
Science 222, 727-733

Sterzel, R.B., Lovett, D.H., Stein, H.D., Kashgarian, M. (1982)
The mesangium and glomerulonephritis
Klin. Wochenschr. 60, 1077-1094

Stilmant, M.M., Bolton, W.K., Sturgill, B.C., Schmitt, G.W., Couser, W.G. (1979)
Crescentic glomerulonephritis without immune deposits: clinicopathologic features
Kidney Int. 15, 184-195

Stobo, J.D. (1982)
Cellular interactions in the expression and regulation of immunity, 89-96
in: Stites, D.P., Stobo, J.D., Fudenberg, H.H., Wells, J.V.: Basic and clinical immunology;
4. Aufl., Lange, Los Altos

Striker, G.E. Mannik, M., Tung, M.Y. (1979)
Role of marrow-derived monocytes and mesangial cells in removal of immune complexes from renal glomeruli
J. Exp. Med. 149, 127-136

Svejgaard, A., Platz, P., Ryder, L.P., Nielsen, L., Staub & Thomson, M. (1975)
HLA and disease associations - a survey
Transplant. Rev. 22, 3-43

Svejgaard, A., Platz, P., Ryder, L.P. (1980)
Insulin-dependent diabetes mellitus, 638-656
in: Terasaki, P.I.: Histocompatibility Testing 1980;
UCLA Tissue Typing Laboratory, Los Angeles

Svejgaard, A., Platz, P., Ryder, L.P. (1983)
HLA and disease 1982 - a survey
Immunol. Rev. 70, 193-218

Terasaki, P.I., McClelland, J.D. (1964)
Microdroplet assay of human serum cytotoxins
Nature 204, 998-1000

Thomson, P.D., Barratt, T.M., Stokes, C.R., Turner, M.W., Soothill, J.F. (1976)
HLA antigens and atopic features in steroid-responsive nephrotic syndrome of childhood
Lancet II, 765-768

Thorsby, E. (1983)
Structure and function of MHC - power of molecular genetics amply affirmed
Immunol. today 4, 312-315

Tosi, R., Tanigaki, N., Centis, D., Ferrara, G.B., Pressman, D. (1978)
Immunological dissection of human Ia molecules
J. Exp. Med. 148, 1592-1611

Trompeter, R.S., Barratt, T.M., Kay, R., Turner, M.W., Soothill, J.F. (1980)
HLA, atopy, and cyclophosphamide in steroid-responsive childhood nephrotic syndrome
Kidney Int. 17, 113-117

Van Rood, J.J., Van Leeuwen, A., Keuning, J.J., Blusse van Oud Alblas, A. (1975)
The serological recognition of the human MLC determinants using a modified cytotoxicity technique
Tissue Antigens 5, 73-79

Van Rood, J.J. (1986)
HLA antigens as carrier molecules
Hum. Immunol. 17, 246-249

Vogt, A., Batsford, S.R. (1982)
Eine neue Vorstellung zur Pathogenese der Immunkomplexnephritis
Klin. Wochenschr. 60, 1095-1101

Volhard, F., Fahr, T.H. (1914)
Die Brightsche Nierenkrankheit. Klinik, Pathologie und Atlas, 115-143
Springer, Berlin

Wells, J.V., Henney, D.S. (1982)
Immune mechanisms in tissue damage, 136-155
in: Stites, D.P., Stobo, J.D., Fudenberg, H.H., Wells, J.V.: Basic and clinical immunology;
4. Aufl., Lange, Los Altos

Wilson, C.B., Dixon, F.J. (1973)
Antiglomerular basement membrane antibody induced glomerulonephritis
Kidney Int. 3, 74-89

Wilson, C.B., Dixon, F.J. (1981)
The renal response to immunological injury, 1237-1350
in: Brenner, B.M., Rector, F.C.: The Kidney;
3. Aufl., Saunders, Philadelphia

Wilson, C.B., Cole, E.H., Zanetti, M., Mampaso, F.M. (1982)
Renal disease, 557-575
in: Stites, D.P., Stobo, J.D., Fudenberg, H.H., Wells, J.V.: Basic and clinical immunology;
4. Aufl., Lange, Los Altos

Zinkernagel, R.M., Doherty, P.C. (1979)
MHC-restricted cytotoxic T cells: studies on the biological role of polymorphic major transplantation antigens determing T-cell restriction-specificity, function, and responsiveness
Advanc. Immunol. 27, 51-177

Herrn Professor Dr.med. T. Risler danke ich vielmals für die freundliche Aufnahme als Doktorand und die kritische Diskussion der Untersuchungsergebnisse.

Mein herzlichster Dank gebührt Herrn Privatdozent Dr.med. G.A. Müller für die Überlassung des Themas, die vertrauensvolle Aufnahme in seinem Labor, die Einführung in die angewandten Labortechniken, die fruchtbare Anleitung zu wissenschaftlichem Arbeiten und die hervorragende Betreuung während der gesamten Untersuchungen.

Die Reagenzien zur HLA-Typisierung wurden dankenswerter Weise von Frau Privatdozentin Dr.med. C. Müller und Herrn Dr.med. P. Wernet zur Verfügung gestellt, Herr Privatdozent Dr.med. J. Kömpf unterstützte mich liebenswürdiger Weise bei der Durchführung der elektrophoretischen Untersuchungen. Für die Überlassung der Nierenhistologiebefunde aller in die Studie aufgenommener Patienten während der Jahre 1982-84 danke ich Herrn Professor Dr.med. A. Bohle verbindlichst.

# Lebenslauf

Geboren wurde ich, Manfred Michael **Gebhardt**, am 20.10.1958 in Metzingen/Württemberg als Sohn der Eheleute Michael und Rosa Gebhardt. Nach dem Besuch der Grundschule wechselte ich 1968 auf das Dietrich-Bonhoeffer-Gymnasium in Metzingen über, wo ich am 27.5.1977 die Reifeprüfung ablegte.

Vom 1.10.1977 bis 30.9.1979 war ich als Zeitsoldat im Truppensanitätsdienst der Bundeswehr tätig. Aus dem Raketenartilleriebataillon 250 in Engstingen schied ich als Fähnrich der Reserve (ROA) aus.

Das Studium der Humanmedizin nahm ich zum Wintersemester 1979 an der Universität in Ulm auf. Nach bestandener ärztlicher Vorprüfung am 25.8.1981 wechselte ich zum Wintersemester 1981 an die Eberhard-Karls-Universität nach Tübingen über. Am 26.8.1982 brachte ich den 1. Teil, am 25.2.1985 den 2. Teil der ärztlichen Prüfung hinter mich.

Mit meiner Frau Susanne, einer Krankenschwester, vermählte ich mich am 13.12.1985 in Tübingen.

Das praktische Jahr des Medizinstudiums führte ich an den Tübinger Universitätskliniken durch mit dem Wahlfach Pädiatrie. Nach Bestehen des 3. Teils der ärztlichen Prüfung am 29.4.1986 erhielt ich am 12.5.1986 die Approbation als Arzt.

Seit dem 1.6.1986 arbeite ich als wissenschaftlicher Angestellter an der Abteilung III der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik in Tübingen. Mein spezielles Interesse auf dem Gebiet der inneren Medizin gilt der Nephrologie und Kardiologie.

Offsetdruck Spengler
Lessingstraße 4 · 7401 Neustetten 1
Telefon (0 74 72) 2 21 45